THESE

présentée

à l'UNIVERSITE SCIENTIFIQUE ET MEDICALE DE GRENOBLE

pour obtenir

le grade de Docteur d'Université

par

Christo GOUNTCHEV

ETUDE DE L'ACCUMULATION DE QUELQUES MINERAUX DANS LES PLANTES PAR RADIOACTIVATION NEUTRONIQUE. ASPECT ECOLOGIQUE

Soutenue le 23 janvier 1973, devant la Commission d'Examen :

Président : M. le Professeur L. NEEL
Rapporteur : M. le Professeur P. OZENDA
Examinateur : M. le Professeur R. BARJON
Examinateur : M. A. FOURCY

Travaux du laboratoire de Biologie Végétale du Département de Recherche Fondamentale
CENTRE D'ETUDES NUCLEAIRES DE GRENOBLE

T H E S E

présentée

à l'UNIVERSITE SCIENTIFIQUE ET MEDICALE DE GRENOBLE

pour obtenir

le grade de Docteur d'Université

par

Christo GOUNTCHEV

ETUDE DE L'ACCUMULATION DE QUELQUES MINERAUX DANS LES PLANTES PAR RADIOACTIVATION NEUTRONIQUE. ASPECT ECOLOGIQUE

Soutenue le 23 janvier 1973, devant la Commission d'Examen :

Président : M. le Professeur L. NEEL
Rapporteur : M. le Professeur P. OZENDA
Examinateur : M. le Professeur R. BARJON
Examinateur : M. A. FOURCY

Travaux du laboratoire de Biologie Végétale du Département de Recherche Fondamentale
CENTRE D'ETUDES NUCLEAIRES DE GRENOBLE

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE SCIENTIFIQUE
ET MEDICALE DE GRENOBLE

LISTE DES PROFESSEURS

Président : Monsieur Michel SOUTIF
Vice-Président : Monsieur Gabriel CAU

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	ANGLES D'AURIAC Paul	Mécanique des fluides
	ARNAUD Georges	Clinique des maladies infectieuses
	ARNAUD Paul	Chimie
	AUBERT Guy	Physique
	AYANT Yves	Physique approfondie
Mme	BARBIER Marie-Jeanne	Electrochimie
MM.	BARBIER Jean-Claude	Physique expérimentale
	BARBIER Reynold	Géologie appliquée
	BARJON Robert	Physique nucléaire
	BARNOUD Fernand	Biosynthèse de la cellulose
	BARRA Jean-René	Statistiques
	BARRIE Joseph	Clinique chirurgicale
	BENOIT Jean	Radioélectricité
	BERNARD Alain	Mathématiques Pures
	BESSON Jean	Electrochimie
	BEZES Henri	Chirurgie générale
	BLAMBERT Maurice	Mathématiques Pures
	BOLLIET Louis	Informatique (IUT B)
	BONNET Georges	Electrotechnique
	BONNET Jean-Louis	Clinique ophtalmologique
	BONNET-EYMARD Joseph	Pathologie médicale
	BONNIER Etienne	Electrochimie Electrométallurgie
	BOUCHERLE André	Chimie et Toxicologie
	BOUCHEZ Robert	Physique nucléaire
	BOUSSARD Jean-Claude	Mathématiques Appliquées
	BRAVARD Yves	Géographie
	BRISSONNEAU Pierre	Physique du Solide
	BUYLE-BODIN Maurice	Electronique
	CABANAC Jean	Pathologie chirurgicale
	CABANEL Guy	Clinique rhumatologique et hydrologie
	CALAS François	Anatomie
	CARRAZ Gilbert	Biologie animale et pharmacodynamie
	CAU Gabriel	Médecine légale et Toxicologie
	CAUQUIS Georges	Chimie organique
	CHABAUTY Claude	Mathématiques Pures
	CHARACHON Robert	Oto-Rhino-Laryngologie
	CHATEAU Robert	Thérapeutique
	CHENE Marcel	Chimie papetière
	COEUR André	Pharmacie chimique
	CONTAMIN Robert	Clinique gynécologique
	COUDERC Pierre	Anatomie Pathologique
	CRAYA Antoine	Mécanique
Mme	DEBELMAS Anne-Marie	Matière médicale
MM.	DEBELMAS Jacques	Géologie générale
	DEGRANGE Charles	Zoologie
	DESRE Pierre	Métallurgie
	DESSAUX Georges	Physiologie animale
	DODU Jacques	Mécanique appliquée
	DOLIQUE Jean-Michel	Physique des plasmas
	DREYFUS Bernard	Thermodynamique
	DUCROS Pierre	Cristallographie
	DUGOIS Pierre	Clinique de Dermatologie et Syphiligraphie
	FAU René	Clinique neuro-psychiatrique
	FELICI Noël	Electrostatique

MM.	GAGNAIRE Didier	Chimie physique
	GALLISSOT François	Mathématiques Pures
	GALVANI Octave	Mathématiques Pures
	GASTINEL Noël	Analyse numérique
	GEINDRE Michel	Electroradiologie
	GERBER Robert	Mathématiques Pures
	GIRAUD Pierre	Géologie
	KLEIN Joseph	Mathématiques Pures
Mme	KOFLER Lucie	Botanique et Physiologie végétale
MM.	KOSZUL Jean-Louis	Mathématiques Pures
	KRAVTCHENKO Julien	Mécanique
	KUNTZMANN Jean	Mathématiques Appliquées
	LACAZE Albert	Thermodynamique
	LACHARME Jean	Biologie végétale
	LAJZEROWICZ Joseph	Physique
	LATREILLE René	Chirurgie générale
	LATURAZE Jean	Biochimie pharmaceutique
	LAURENT Pierre	Mathématiques Appliquées
	LEDRU Jean	Clinique médicale B
	LLIBOUTRY Louis	Géophysique
	LOUP Jean	Géographie
Mle	LUTZ Elisabeth	Mathématiques Pures
	MALGRANGE Bernard	Mathématiques Pures
	MALINAS Yves	Clinique obstétricale
	MARTIN-NOEL Pierre	Séméiologie médicale
	MASSEPORT Jean	Géographie
	MAZARE Yves	Clinique médicale A
	MICHEL Robert	Minéralogie et Pétrographie
	MOURIQUAND Claude	Histologie
	MOUSSA André	Chimie nucléaire
	NEEL Louis	Physique du Solide
	OZENDA Paul	Botanique
	PAUTHENET René	Electrotechnique
	PAYAN Jean-Jacques	Mathématiques Pures
	PEBAY-PEYROULA Jean-Claude	Physique
	PERRET René	Servomécanismes
	PILLET Emile	Physique Industrielle
	RASSAT André	Chimie systématique
	RENARD Michel	Thermodynamique
	REULOS René	Physique Industrielle
	RINALDI Renaud	Physique
	ROGET Jean	Clinique de pédiatrie et de puériculture
	SANTON Lucien	Mécanique
	SEIGNEURIN Raymond	Microbiologie et Hygiène
	SENGEL Philippe	Zoologie
	SILBERT Robert	Mécanique des fluides
	SOUTIF Michel	Physique générale
	TANCHE Maurice	Physiologie
	TRAYNARD Philippe	Chimie générale
	VAILLAND François	Zoologie
	VALENTIN Jacques	Physique Nucléaire
	VAUQUOIS Bernard	Calcul électronique
Mme	VERAIN Alice	Pharmacie galénique
M.	VERAIN André	Physique
Mme	VEYRET Germaine	Géographie
MM.	VEYRET Paul	Géographie
	VIGNAIS Pierre	Biochimie médicale
	YOCCOZ Jean	Physique nucléaire théorique

PROFESSEURS ASSOCIES

MM.	BULLEMER Bernhard	Physique
	HANO JUN-ICHI	Mathématiques Pures
	STEPHENS Michaël	Mathématiques Appliquées

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	BEAUDOING André	Pédiatrie
Mme	BERTRANDIAS Françoise	Mathématiques Pures
MM.	BERTRANDIAS Jean-Paul	Mathématiques appliquées
	BIAREZ Jean-Pierre	Mécanique
	BONNETAIN Lucien	Chimie minérale
Mme	BONNIER Jane	Chimie générale
MM.	CARLIER Georges	Biologie végétale
	COHEN Joseph	Electrotechnique
	COUMES André	Radioélectricité
	DEPASSEL Roger	Mécanique des Fluides
	DEPORTES Charles	Chimie minérale
	GAUTHIER Yves	Sciences biologiques
	GAVEND Michel	Pharmacologie
	GERMAIN Jean Pierre	Mécanique
	GIDON Paul	Géologie et Minéralogie
	GLENAT René	Chimie organique
	HACQUES Gérard	Calcul numérique
	JANIN Bernard	Géographie
Mme	KAHANE Josette	Physique
MM.	MULLER Jean-Michel	Thérapeutique
	PERRIAUX Jean-Jacques	Géologie et minéralogie
	POULOUJADOFF Michel	Electrotechnique
	REBECQ Jacques	Biologie (CUS)
	REVOL Michel	Urologie
	REYMOND Jean-Charles	Chirurgie générale
	ROBERT André	Chimie papetière
	DE ROUGEMONT Jacques	Neurochirurgie
	SARRAZIN Roger	Anatomie et chirurgie
	SARROT-REYNAULD Jean	Géologie
	SIBILLE Robert	Construction Mécanique
	SIROT Louis	Chirurgie générale
Mme	SOUTIF Jeanne	Physique générale

MAITRES DE CONFERENCES ET MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mle	AGNIUS-DELORD Claudine	Physique pharmaceutique
	ALARY Josette	Chimie analytique
MM.	AMBLARD Pierre	Dermatologie
	AMBROISE-THOMAS Pierre	Parasitologie
	ARMAND Yves	Chimie
	BEGUIN Claude	Chimie organique
	BELORIZKY Elie	Physique
	BENZAKEN Claude	Mathématiques Appliquées
	BILLET Jean	Géographie
	BLIMAN Samuel	Electronique (EIE)
	BLOCH Daniel	Electrotechnique
Mme	BOUCHE Liane	Mathématiques (CUS)
MM.	BOUCHET Yves	Anatomie
	BOUVARD Maurice	Mécanique des Fluides

MM.	BRODEAU François	Mathématiques (IUT B)
	BRUGEL Lucien	Energétique
	BUISSON Roger	Physique
	BUTEL Jean	Orthopédie
	CHAMBAZ Edmond	Biochimie médicale
	CHAMPETIER Jean	Anatomie et organogénèse
	CHIAVERINA Jean	Biologie appliquée (EFP)
	CHIBON Pierre	Biologie animale
	COHEN-ADDAD Jean-Pierre	Spectrométrie physique
	COLOMB Maurice	Biochimie médicale
	CONTE René	Physique
	COULOMB Max	Radiologie
	CROUZET Guy	Radiologie
	DURAND Francis	Métallurgie
	DUSSAUD René	Mathématiques (CUS)
Mme	ETERRADOSSI Jacqueline	Physiologie
MM.	FAURE Jacques	Médecine légale
	GENSAC Pierre	Botanique
	GIDON Maurice	Géologie
	GRIFFITHS Michaël	Mathématiques Appliquées
	GROULADE Joseph	Biochimie médicale
	HOLLARD Daniel	Hématologie
	HUGONOT Robert	Hygiène et Médecine préventive
	IDELMAN Simon	Physiologie animale
	IVANES Marcel	Electricité
	JALBERT Pierre	Histologie
	JOLY Jean-René	Mathématiques Pures
	JOUBERT Jean-Claude	Physique du Solide
	JULLIEN Pierre	Mathématiques Pures
	KAHANE André	Physique générale
	KUHN Gérard	Physique
	LACOUME Jean-Louis	Physique
Mme	LAJZEROWICZ Jeanninе	Physique
MM.	LANCIA Roland	Physique atomique
	LE JUNTER Noël	Electronique
	LEROY Philippe	Mathématiques
	LOISEAUX Jean-Marie	Physique Nucléaire
	LONGEQUEUE Jean-Pierre	Physique Nucléaire
	LUU DUC Cuong	Chimie Organique
	MACHE Régis	Physiologie végétale
	MAGNIN Robert	Hygiène et Médecine préventive
	MARECHAL Jean	Mécanique
	MARTIN-BOUYER Michel	Chimie (CUS)
	MAYNARD Roger	Physique du Solide
	MICHOULIER Jean	Physique (I.U.T. "A")
	MICOUD Max	Maladies infectieuses
	MOREAU René	Hydraulique (INP)
	NEGRE Robert	Mécanique
	PARAMELLE Bernard	Pneumologie
	PECCOUD François	Analyse (IUT B)
	PEFFEN René	Métallurgie
	PELMONT Jean	Physiologie animale
	PERRET Jean	Neurologie
	PERRIN Louis	Pathologie expérimentale
	PFISTER Jean-Claude	Physique du Solide
	PHELIP Xavier	Rhumatologie
Mle	PIERY Yvette	Biologie animale

MM.	RACHAIL Michel	Médecine interne
	RACINET Claude	Gynécologie et obstétrique
	RENAUD Maurice	Chimie
	RICHARD Lucien	Botanique
Mme	RINAUDO Marguerite	Chimie macromoléculaire
MM.	ROMIER Guy	Mathématiques (IUT B)
	SHOM Jean Claude	Chimie Générale
	STIEGLITZ Paul	Anesthésiologie
	STOEBNER Pierre	Anatomie pathologique
	VAN CUTSEM Bernard	Mathématiques Appliquées
	VEILLON Gérard	Mathématiques Appliquées (INP)
	VIALON Pierre	Géologie
	VOOG Robert	Médecine interne
	VROUSSOS Constantin	Radiologie
	ZADWORNY François	Electronique

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

MM.	BOUDOURIS Georges	Radioélectricité
	CHEEKE John	Thermodynamique
	GOLDSCHMIDT Hubert	Mathématiques
	SIDNEY STUARD	Mathématiques Pures
	YACOUD Mahmoud	Médecine légale

CHARGES DE FONCTIONS DE MAITRES DE CONFERENCES

Mme	BERIEL Hélène	Physiologie
Mme	RENAUDET Jacqueline	Microbiologie

Fait le 30 Mai 1972

A :
ma femme,
ma fille,
mes parents,
mes beaux-parents...

... A tous ceux qui m'ont cru
et aidé à réaliser cette thèse,
avec ma gratitude.

La présente thèse a été préparée au laboratoire de Biologie Végétale du Département de Recherche Fondamentale de Grenoble.

Nous voudrions exprimer notre respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur NEEL, Membre de l'Institut, Délégué du Haut-Commissaire à l'Energie Atomique, Prix Nobel, pour s'être intéressé à notre travail et nous avoir fait l'honneur de présider cette thèse.

Nous remercions vivement Monsieur DAUTREPPE, Chef du Département de Recherche Fondamentale, qui nous a accueilli dans ses laboratoires.

Pour toutes les questions administratives, parfois complexes, nous avons été suivi par Monsieur DONVEZ, responsable des stagiaires étrangers au Service des Relations Extérieures du CEN-G : nous lui exprimons notre reconnaissance.

Nos vifs remerciements s'adressent à Monsieur le Professeur BARJON, qui a accepté de siéger dans le jury.

Nous mentionnons tout spécialement dans notre reconnaissance Monsieur le Professeur OZENDA, Membre Correspondant de l'Institut, Conseiller Scientifique du laboratoire, qui nous a encouragé à soutenir cette thèse, après avoir examiné nos travaux de très près.

Nous exprimons notre gratitude profonde à Monsieur FOURCY, Docteur ès Sciences, Chargé de Gestion du laboratoire. C'est grâce à ses travaux et publications que le laboratoire de Biologie Végétale a acquis à l'étranger une réputation qui nous a incité à venir faire ce stage ici. Nous avons enrichi nos connaissances dans les multiples applications de l'analyse par radioactivation à la Biologie et à l'Ecologie. Il était toujours prêt à nous conseiller et à nous aider dans nos expériences ainsi que pour les corrections de cette thèse.

Monsieur NEUBURGER nous a beaucoup appris dans la pratique de l'analyse par radioactivation : il nous a conseillé et aidé dans la réalisation des manipulations radiochimiques et a ainsi contribué à l'accomplissement de ce travail.

Nous n'aurions pu exécuter les nombreux comptages radioactifs et analyses de spectres sans l'assistance complète et toujours efficace de Madame DESCOURS, de Madame DUNAND-POTTON, de Monsieur HADDAD et de Monsieur GUITTON.

Nous avons trouvé un parfait accueil à la pile de la part de Monsieur FOLL.

Enfin, nous sommes reconnaissant à Madame RAVIER, secrétaire du laboratoire, d'avoir déchiffré notre français parfois un peu saugrenu et de l'avoir rendu présentable, tout en le dactylographiant.

Nous ne terminerons pas sans une pensée pour tous nos collègues du laboratoire qui ont bien voulu nous accepter et même nous rendre service quand nous en avions besoin.

--

SOMMAIRE

Page :

INTRODUCTION

- PREMIERE PARTIE :

I - Analyse par activation ; aspects généraux 3

I.1. Qu'est-ce que l'analyse par activation ?
I.2. Sources d'irradiation ; 3
I.3. Réactions nucléaires 4
I.3.1. Formation et décroissance d'un radioisotope 5
I.3.2. Production d'un radioélément 7
I.3.3. Paramètre important pour la formation d'un radioisotope . . . 7
I.4. La sensibilité de l'analyse par activation 9
I.5. Pratique de l'analyse 11
I.6. Technique de comptage et dépouillement de spectres 11
I.7. Schéma d'analyse par activation 12

- DEUXIEME PARTIE :

II - Dosage de Hg, Br et As dans quelques plantes 14

II.1. Préparation du matériel végétal
II.2. Le cas du mercure 14
II.2.1. Minéralisation et distillation
II.2.2. Résultats obtenus 15
II.3. Discussion 19
II.4. Le cas du brome et de l'arsenic 22
II.5. Résultats obtenus 22
II.6. Discussion 28

- TROISIEME PARTIE :

III - Dosage du cuivre dans les végétaux et les sols 30

III.1. Choix de la méthode par radioactivation et mode opératoire 32
III.2. Conditions de nos expériences 32
III.3. Préparation des échantillons 34
III.4. Analyse par radioactivation non destructive 34
III.5. Préparation des échantillons pour les mesures 35
III.6. Données concernant la réaction nucléaire utilisée 35
III.7. Résultats :
III.7.1. Cas de la vigne traitée 35
III.7.2. Cas de l'accumulation du cuivre dans les sols 38
III.7.3. Cas des arbres fruitiers et des légumes 41
III.8. Discussion 41

- QUATRIEME PARTIE :

IV - Analyse multiélémentaire des minéraux dans les plantes à l'aide d'un détecteur au germanium-lithium : 44

IV.1. Régime d'activation des échantillons et des étalons 45
IV.2. Composition des étalons 45
IV.3. Minéralisation 45
IV.4. Raisons de la minéralisation 46
IV.5. Méthode de mesure des spectres obtenus 46
IV.6. Dépouillement automatique de spectres gamma (DELOR) 46

IV.6.1. Hypothèse fondamentale ; recherche des pics significatifs . . 51
IV.6.1.1. Principe 52
IV.6.1.2. Elimination des pics non signicatifs 54
IV.6.2. Calcul des paramètres des pics retenus ; théorie générale : 55
IV.6.2.1. Application ; mise en équation des pics 57
IV.6.2.2. Test d'interférence entre pics 58
IV.6.2.3. Définition de la zone d'intérêt et du fruit de fond . . . 58
IV.6.2.4. Pic isolé 58
IV.6.2.5. Plusieurs pics interfèrent 59
IV.6.2.6. Calcul de la surface du pic 60
IV.7. Résultats 60
IV.7.1. Analyse de quelques éléments dans les plantes :
IV.7.1.1. Cas du fer 61
IV.7.1.2. Cas du zinc 62
IV.7.1.3. Cas du cobalt 66
IV.7.1.4. Cas du rubidium 68
IV.7.1.5. Cas du césium 70
IV.7.1.6. Cas du chrome 72
IV.7.1.7. Cas du baryum, de l'europium, du scandium et du strontium 72
IV.7.2. L'accumulation de quelques éléments par différentes plantes poussant simultanément sur des sites donnés 78
IV.7.3. Y a-t-il dépendance entre l'accumulation de quelques éléments par les plantes de même espèce, mais prélevées dans des d sites différents ? 78
IV.8. Discussion 88

- CINQUIEME PARTIE :

V.- Dosage du fluor dans des végétaux cultivés, à l'aide de l'activation par neutrons rapides de 14 MeV 105
V.1. Rappel de la méthode 105
V.2. Préparation des échantillons 106
V.3. Résultats 107
V.4. Discussion 107

- CONCLUSION GENERALE 113

-=-

INTRODUCTION

Il y a un siècle déjà que le biologiste allemand Erns HAECKEL donnait la définition d'une nouvelle science : l'écologie (*oikos*, la maison ; *logos*, la science) :

"C'est la connaissance de l'économie de la nature, l'investigation de toutes les relations d'un animal à la fois avec son milieu inorganique et organique incluant par dessus tout ses relations amicales et antagonistes avec ceux des animaux et des plantes avec lesquels il entre directement en contact".

Ainsi, le créateur du terme met donc l'accent sur l'économie de la nature et sur les interactions et interrelations qui existent entre le "milieu" organique et inorganique, d'une part, et les êtres vivants, d'autre part. Bien que les êtres vivants - végétaux et animaux - soient nombreux et variés, nous avons consacré nos études à l'accumulation de quelques minéraux par les plantes. Il est évident que les plantes qui poussent sur des sols divers entrent en rapport avec eux, en particulier pour s'alimenter en éléments minéraux. Si l'on excepte les éléments carbone, hydrogène, oxygène, fournis par l'air et l'eau, les sols doivent fournir aux végétaux des quantités suffisantes d'azote, de phosphore, de soufre, de potassium, de calcium, etc... Ils doivent également leur procurer, mais à l'état de traces, des oligoéléments tels que le zinc, le cobalt, le cuivre, le molybdène, etc.

Les nombreux travaux exécutés pendant les dernières années ont montré le rôle respectif des macroéléments et des oligoéléments ou microéléments. Plusieurs d'entre eux sont réputés indispensables et jouent un rôle important dans le processus métabolique au niveau cellulaire. En outre, un bon équilibre est nécessaire. Rien ne sert d'avoir de grandes quantités de plusieurs substances nutritives, si l'une d'elles fait défaut ou n'est pas en quantité suffisante. En nutrition, on appelle cette règle "loi du facteur limitant ou du minimum".

On assiste aujourd'hui à un développement sans précédent de tous les domaines de la science : la physique, la chimie, les mathématiques, la biologie. On crée de nouvelles sciences comme la biophysique, la biochimie, la cosmologie, etc. Mais la croissance de la science moderne de nos jours dépend directement et ne fait qu'accompagner le développement des techniques de recherche et des méthodes d'analyse.

Bien que beaucoup d'autres auteurs, après HAECKEL, aient défini à nouveau l'écologie en mettant l'accent sur différentes modifications et aspects privilégiés de l'écologie, grâce à la prolifération des recherches écologiques aux Etats-Unis et en URSS, on peut dire que maintenant l'écologie est devenue une science moderne et fait appel, elle aussi, aux techniques les plus récentes.

Pour effectuer nos études, nous avons utilisé les possibilités puissantes d'une méthode de chimie analytique : l'analyse par activation neutronique, en utilisant tous les avantages de la méthode - qui est considérée maintenant comme la méthode principale pour l'étude de l'environnement -. En appliquant quelques-unes des variantes de la méthode (analyse par activation destructive et non destructive) nous avons pu obtenir les résultats présentés dans cette thèse d'Université. Le plan général en est :

- Rappels sur l'analyse par activation ;
- Dosage du brome, de l'arsenic et du mercure dans les plantes ;
- Dosage du cuivre dans les sols et plantes poussant sur le territoire d'un vignoble ;
- Analyse multiélémentaire des minéraux dans les plantes à l'aide du semi-conducteur Ge-Li ;
- Dosage du fluor dans les végétaux cultivés, à l'aide de l'activation par neutrons rapides de 14 MeV.

Certains de nos résultats ont déjà donné naissance à quelques publications, ainsi qu'à une communication présentée à un colloque organisé par l'A.C.T.I.M.-France à Sofia (Bulgarie) /30/.

PREMIERE PARTIE

I - ANALYSE PAR ACTIVATION ; ASPECTS GENERAUX -

I.1. - Qu'est-ce que l'analyse par activation ?

Rappel de quelques définitions :

L'analyse par radioactivation neutronique se présente comme une méthode d'analyse isotopique qui permet la détermination d'un élément particulier dans un échantillon en mesurant la radioactivité induite dans cet échantillon par une irradiation à l'aide de neutrons.

La spectrométrie gamma permet de déterminer l'énergie des émissions γ de l'échantillon analysé. Ensuite, à l'aide d'une table de réaction nucléaire, on recherche quel élément a pu s'activer en donnant un tel radioisotope.

L'analyse par radioactivation est une méthode qui s'adresse aux éléments sans tenir compte de leur liaison chimique. Les réactions nucléaires donnent, à partir d'un noyau donné, un isotope de ce noyau ou le noyau d'un autre élément. Le plus souvent avec des neutrons thermiques, on obtient par réaction (n, γ) un radioisotope de l'élément analysé. L'activité induite pour un élément donné est proportionnelle à la quantité de l'élément présent dans l'échantillon. Par l'activation simultanée d'un témoin, nous pouvons très facilement calculer la quantité des éléments analysés /1, 10, 20, 42, 47, 52, 53/.

I.2. - Sources d'irradiation :

Nous nous limiterons, dans ce travail, en ne considérant que l'activation par les neutrons ; ceux-ci, grâce à leur masse et à leur absence de charge, constituent les projectiles les plus commodes et les plus utilisés pour rendre radioactifs les noyaux de la plupart des éléments. Il est bien évident que tous les rayonnements capables d'entrer en réaction avec les noyaux peuvent être utilisés pour l'activation, mais les avantages de l'activation avec les neutrons en fait le mode d'activation le plus répandu.

Du point de vue de leur énergie, les neutrons sont qualifiés de différentes façons :

a) ultrarapide : $E_n > 20$ MeV ;

b) rapide : $0,5 \text{ MeV} \leqslant E_n \leqslant 20 \text{ MeV}$;

c) intermédiaire : $0,001 \text{ MeV} \leqslant E_n \leqslant 0,5 \text{ MeV}$;

d) lents : $0,1 \text{ eV} \leqslant E_n \leqslant 1,000 \text{ eV}$;

e) thermiques : $0,005 \text{ eV} \leqslant E_n \leqslant 0,1 \text{ eV}$;

f) froids : $E_n \leqslant 0,005$ eV.

Donc les installations les plus utilisées dans le domaine de l'analyse par activation sont les réacteurs qui sont les principales sources de neutrons thermiques ainsi que les accélérateurs de neutrons (par exemple du type SAMES) qui fournissent le flux de neutrons de 3 MeV et de 14 MeV (neutrons rapides). L'avantage théorique de ces derniers est de pouvoir pratiquer l'analyse par activation dans n'importe quel laboratoire de recherche, même éloigné d'un réacteur.

I.3. - Réactions nucléaires :

Examinons rapidement comment agissent les neutrons : un neutron attaquant le noyau d'un élément peut le pénétrer et former un noyau composé, qui, au bout de quelque temps, va émettre l'énergie excédentaire sous forme de rayons gamma, ou bien il y aura émission d'une particule (qui peut être un autre neutron, ou proton, etc.), qui quitte le noyau.

Les réactions les plus courantes en analyse par activation sont rassemblées dans le tableau I :

TABLEAU I : REACTIONS COURAMMENT RENCONTREES
EN ANALYSE PAR ACTIVATION, d'après FOURCY [22]

Type de particule	Réactions les plus courantes
Neutrons thermiques 0 à 0,1 eV	(n, γ)
Neutrons rapides > 1,000 eV	(n, 2 n) (n, γ) (n, p) (n, α)
Particules chargées énergie généralement élevée	(p, n) (p, d) (p, γ) (α, n) (α, p)
Radiations électromagnétiques	(γ, n) (γ, p)

Le plus souvent, le nouveau noyau n'est pas stable et, par certaines modifications, cherche à revenir à la stabilité. Ces différentes modifications sont connues comme α, β^-, β^+(radioactivité) et γ (émission de rayonnement γ) :

- radioactivité α : le noyau perd un hélion ;

$$ {}^{A}_{Z}M \rightarrow {}^{A-4}_{Z-2}M $$

- radioactivité β^- : un déséquilibre entre neutrons et protons amène la transformation d'un neutron en proton dans le noyau ;

$$ {}^{A}_{Z}M \rightarrow {}^{A}_{Z+1}M + \text{une charge } ^- + \text{neutrino} $$

- radioactivité β^+ et capture d'électron : dans ce cas, nous avons transformation d'un proton en neutron qui s'effectue par capture d'un électron des couches entourant le noyau (couche K). Elle est suivie de l'émission de rayons X caractéristiques ;

$$^{A}_{Z}M \rightarrow {}^{A}_{Z-1}M + \text{une charge } ^{+} + \text{neutrino}$$

La collision entre une particule β^+ et son antiparticule β^- entraîne leur annihilation ; leur énergie est convertie en 2 photons d'énergie 0,51 MeV, émis en direction opposée ; cette particularité est exploitée en analyse par activation, notamment par la méthode des coïncidences.

- émission de rayonnement γ : bien qu'il y ait un certain nombre d'émetteurs β purs, dans la plupart des cas, une transformation dans le noyau laisse celui-ci dans un ou plusieurs états excités intermédiaires ; le passage d'un état à un autre jusqu'à l'état fondamental est accompagné d'un rayonnement γ d'énergie définie.

I.3.1. Formation et décroissance d'un radioisotope :

Le nombre d'atomes radioactifs formés au cours de l'irradiation dans un flux de neutrons d'une certaine masse d'un élément et pendant un temps t, est :

$$n = \frac{m.N.f.\sigma.\phi}{M.\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \qquad (1)$$

où :

m = masse d'élément irradié ;
M = masse atomique de l'élément ;
N = nombre d'Avogadro ;
f = abondance isotopique d'isotope prenant part à la réaction ;
ϕ = flux de particules ;
σ = section efficace de la réaction nucléaire (en barns) ;
λ = constante de désintégration du radioisotope borné ;
t = durée d'irradiation.

La période de décroissance des radioisotopes présente une valeur constante et caractéristique. On appelle période de décroissance le temps pendant lequel l'activité d'un radioisotope diminue de moitié.

$$N = N_o e^{-\lambda t} \qquad (2)$$

où N_o est le nombre d'atomes radioactifs à l'instant t_o.

I.3.2. Production d'un radioélément :

Quand un radioélément est produit à taux constant, le taux d'accumulation de l'isotope est donné par la différence entre le taux de production P et le taux de désintégration de cet isotope :

$$\frac{dN}{dt} = P - \lambda N$$

La solution de cette équation est :

$$N = \frac{P}{\lambda}(1 - e^{-\lambda t}) + N_o e^{-\lambda t}$$

Le taux de désintégration ou activité du radioisotope produit est donc :

$$A = \lambda N = P(1 - e^{-\lambda t})$$

Lors d'une irradiation à flux ϕ constant et compte tenu de ce que le nombre N_i d'atomes inactifs est peu affecté par le nombre d'atomes qui s'activent, le taux de production P est sensiblement constant et a pour valeur :

$$P = N_i \phi \sigma$$

où σ est la section efficace d'activation propre à la réaction envisagée.

La formule donnant l'activité du radioisotope produit au bout d'un temps d'irradiation t s'écrit :

$$\boxed{A = N\phi\sigma(1 - e^{-\lambda t})} \qquad (3)$$

I.3.3. Paramètre important pour la formation d'un radioisotope :

Avant d'effectuer une irradiation, il est nécessaire de tenir compte de certaines notions qui interviennent dans la formation des radioéléments.

- section efficace d'un noyau :

C'est l'aire perpendiculaire à la direction de la radiation qui a été attribuée au noyau pour rendre compte géométriquement de ses interactions avec la radiation ; la valeur s'exprime en barn (1 barn = 10^{-24} cm2). Il est évident que l'activation est plus facile pour les éléments dont la section efficace est élevée.

- seuil des réactions :

Pour qu'une réaction donnée se produise avec un noyau déterminé, il faut que les particules incidentes envisagées possèdent le niveau d'énergie suffisant au-dessous duquel cette réaction n'est pas possible.

- temps d'irradiation :

C'est un élément important dont il faut tenir compte en préparant le plan d'activation, surtout dans le cas d'échantillons biologiques qui contiennent presque tous les éléments de la classification périodique. La courbe de croissance de la radioactivité induite montre qu'une irradiation d'une durée égale à sept fois la période de décroissance d'un radioélément permet d'atteindre presque 100 % d'activité maximum.

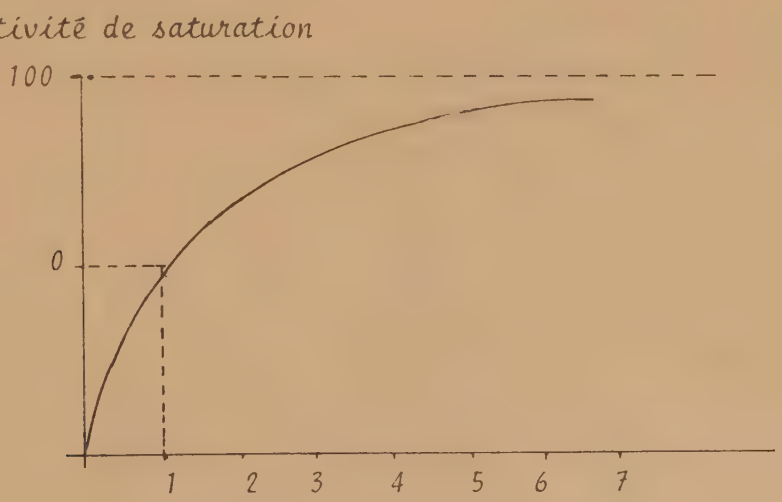


Figure 1 : Courbe de croissance de l'activité d'un radioélément au cours de l'irradiation.

Il est intéressant de remarquer qu'au bout de la première période d'activation, l'activité atteinte est déjà la moitié de l'activité à saturation. Dans le cas d'irradiations de moins d'une période, l'activation est une fonction presque linéaire du temps.

- abondance isotopique :

En effet, il est très important de tenir compte de la proportion naturelle pour chaque élément de l'isotope activable. Exemple : dans le potassium, le ^{41}K qui s'active en ^{42}K ne représente que 6,88 % du potassium naturel. Il est indispensable de connaître la réaction de formation du radioisotope sur lequel seront effectuées les mesures et d'étudier les interférences possibles.

I.4. - La sensibilité de l'analyse par activation :

On détermine la sensibilité de la méthode par la plus petite quantité décelable d'un élément. Les facteurs qui exercent une influence sur la sensibilité sont les suivants :

- section efficace,
- temps d'irradiation,
- nature du flux,
- temps de décroissance avant la mesure,
- proportion de l'isotope naturel employé dans la réaction,
- sensibilité des appareils de mesure de la radioactivité.

Dans le cas d'isotopes de courte durée (quelques minutes) il est indispensable de disposer d'un transfert pneumatique. Il est bien évident que la sensibilité dépend aussi de l'emploi de différentes variantes de l'analyse par activation. Dans le cas purement instrumentale, le comptage peut commencer tout de suite après l'activation ; mais dans le cas où il est nécessaire de pratiquer une séparation radiochimique, il n'est pas possible de compter l'activité d'éléments dont la période de décroissance est inférieure à 30 minutes. Le tableau II représente la sensibilité de la méthode pour quelques éléments, d'après TAYLOR /60 7.

TABLEAU II : SENSIBILITE DE L'ANALYSE PAR ACTIVATION POUR QUELQUES ELEMENTS, d'après TAYLOR /60/

Eléments	en grammes
Temps d'irradiation : 150 heures	
Eu, Dy	$< 10^{-12}$
Mn, Co, Rh, Ag, In, Sm, Ho, Lu, Re, Ir, Au	$10^{-12} - 10^{-11}$
Na, Sc, V, Cu, Ga, As, Br, Kr, Pd, Sb, I, La, Pr, Tb, W, Hg, Th, Yb	$10^{-11} - 10^{-10}$
Al, Cl, Ar, K, Cr, Zn, Ge, Se, Rb, Sr, Y, Nb, Cd, Cs, Gd, Er, Hf, Ta, Os, U	$10^{-10} - 10^{-9}$
P, Ni, Mo, Ru, Sn, Te, Xe, Ba, Ce, Nd, Pt, Tl	$10^{-9} - 10^{-8}$
Mg, Si, Ca, Ti, Bi	$10^{-8} - 10^{-7}$
S, Fe, Zr	$10^{-7} - 10^{-6}$
Pb	10^{-6}
Temps d'irradiation : 1 heure	
Co, Rh, Ag, In, Eu, Dy	$10^{-12} - 10^{-11}$
V, Mn, Br, Kr, I, Lu, Th	$10^{-11} - 10^{-10}$
Al, Cl, Ar, Cu, Ga, As, Se, Nb, Pd, Pr, Sm, Ho, W, Rl, Ir, Au, U	$10^{-10} - 10^{-9}$
Na, Se, Cr, Zn, Ge, Rb, Sr, Mo, Ru, Cd, Sb, Te, Ba, La, Nd, Gd, Er, Tm, Yb, Pt, Hg, Tl	$10^{-9} - 10^{-8}$
Mg, Si, K, Ca, Ti, Ni, Y, Sn, Xe, Cs, Tb, Ta, Cs	$10^{-8} - 10^{-7}$
P, Ce, Hf	$10^{-7} - 10^{-6}$
S, Fe, Zr, Pb, Bi	$> 10^{-6}$

I.5. Pratique de l'analyse :

La radioactivité induite dans les échantillons est mesurée à l'aide d'un spectromètre à rayons gamma, directement ou après séparation chimique. Le spectre γ a l'avantage de donner simultanément la composition en énergie et en intensité des rayonnements gamma émis. L'activité enregistrée représente en effet une mesure de la quantité d'isotope formé et, de là, de l'élément à doser. La formule (1) permet de calculer le poids d'élément recherché ; mais étant donné que le flux ϕ et la section efficace σ d'activation sont mal connus, il n'est pas recommandé de faire des mesures absolues ; il est beaucoup plus facile d'irradier en même temps que l'échantillon une quantité connue de l'élément à doser ou "étalon". Ensuite, il suffit de comparer les activités de l'échantillon et de l'étalon pour trouver la quantité de l'élément dosé dans l'échantillon.

$$\frac{\text{Activité dans l'échantillon}}{\text{Activité dans l'étalon}} = \frac{\text{Poids de l'élément dans l'échantillon}}{\text{Poids de l'élément dans l'étalon}}$$

L'activité est mesurée comme la surface nette du pic photoélectrique le plus favorable dans le spectre, selon la méthode de COVELL /15/.

Dans le cas de la recherche simultanée de plusieurs éléments, le dépouillement automatique de spectres gamma est effectué à l'aide d'un programme sur l'ordinateur IBM du Centre d'Etudes Nucléaires.

I.6. Technique de comptage et dépouillement de spectres :

Pour effectuer nos analyses, nous avons utilisé deux chaînes de comptage de spectrométrie γ :

a) chaîne classique : détecteur NaI(Tl), 4 x 4 pouces anglo-saxons ;
analyseur Intertechnique 400 canaux SA 40 B ;
cellule blindée de mesure avec passeur automatique, type Lemer CBMJ 10 et PACB 2 ;
dispositif d'enregistrement.

b) chaîne à semi-conducteurs :

Diode Ge-Li Radiotechnique 53 cm3 ;
Analyseur DIDAC 4000 canaux, SA 4041 ;
Cellule blindée avec passeur simplifié de 12 échantillons ;
Enregistrement sur bande magnétique.

Le dépouillement des résultats est effectué à l'aide de programmes sur calculateur. La conversation avec le calculateur du Centre se fait à l'aide d'un télétype.

I.7. Schéma d'analyse par activation :

Etant donné que le présent travail n'a pas comme but l'étude de l'analyse par activation, mais son emploi en biologie végétale et en écologie, nous nous limiterons simplement à la citation des différentes étapes parcourues par un échantillon analysé (KOUZNETZOV /44/) :

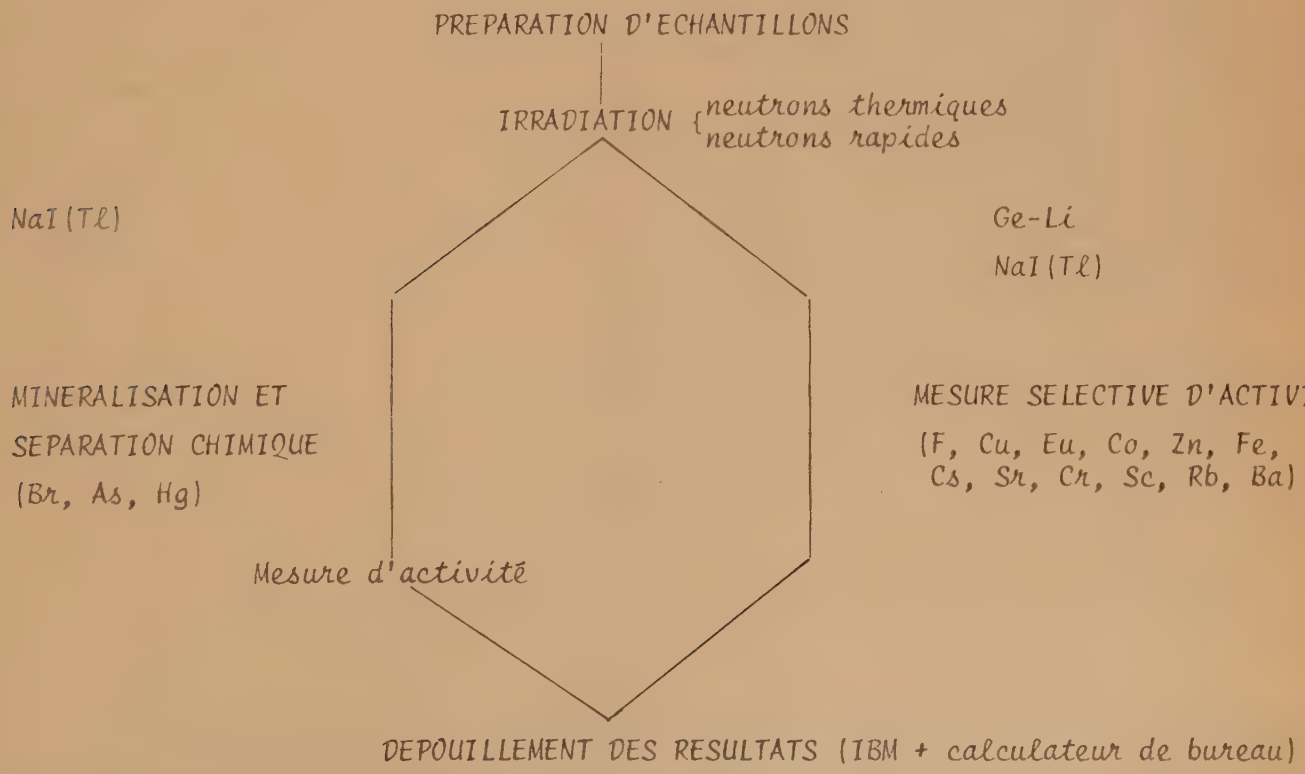


Figure 2 : Schéma des différentes étapes d'analyse par activation, d'après KOUZNETZOV).

Dans la rédaction de notre travail, nous partons de ce schéma général. Les éléments indiqués sont ceux que nous avons dosés.

-=-

DEUXIEME PARTIE

II - DOSAGE DE Hg, Br ET As DANS QUELQUES PLANTES :

L'analyse de l'accumulation du mercure, du brome et de l'arsenic dans les plantes présente un intérêt particulier à cause de leur toxicité. Plusieurs laboratoires de différents pays se consacrent à l'étude de ces élément qui, déposés sur les plantes par pollution ou par les traitements agricoles, se retrouvent en quantité parfois dangereuse dans les aliments /13, 16, 29, 35, 38, 43, 45, 46, 48/.

II.1. Préparation du matériel végétal :

Les échantillons de plantes recueillis sur leur lieu d'origine sont conservés jusqu'à leur arrivée au laboratoire dans des sacs en polyéthylène. Puis ils sont séchés à la température de 70°C jusqu'à poids constant, et broyés dans un récipient de verre. Il en résulte une poudre homogène que nous plaçons soit dans de petits tubes de polyéthylène à fermeture étanche, pour les courtes irradiations, soit dans des capsules de quartz scellées, pour des irradiations de plusieurs heures : dans le cas du mercure et des halogènes, il est indispensable de sceller les récipients d'irradiation.

II.2. Le cas du mercure :

Compte tenu de ce que les teneurs de mercure dans les échantillons sont faibles, nous avons employé une séparation chimique après l'activation dans la pile au flux de 10^{12} $n.cm^{-2}.s^{-1}$, pendant 16 heures. Les échantillons et des étalons sont irradiés en ampoules de quartz scellées.

II.2.1. Minéralisation et distillation :

Après l'irradiation, les ampoules de quartz sont refroidies dans l'azote liquide, cassées dans une enveloppe de polyéthylène, et placées dans le ballon de minéralisation. On ajoute environ 200 mg de mercure entraîneur dans le ballon ; on surmonte celui-ci d'une colonne à reflux équipée d'une ampoule recueillant le distillat. La minéralisation est produite à l'aide d'un mélange NO_3H fumant (9), SO_4H_2 (1). On chauffe jusqu'à l'apparition des fumées

blanches de l'acide sulfurique. L'opération est répétée deux à trois fois pour avoir une minéralisation complète. Après refroidissement, on filtre le distillat, à l'aide de laine de quartz, dans un autre ballon, pour éliminer les débris.

Pour réduire le mercure à l'état métallique, on chauffe le distillat sous colonne à reflux et on introduit quelques grammes d'hypophosphite de sodium ; l'entraîneur forme de petites billes de mercure renfermant les isotopes radioactifs de ce métal. Après refroidissement, la bille est lavée dans de l'eau, de l'alcool et de l'acétone pour l'assécher ; les dernières impuretés sont éliminées de la manière suivante :

La bille est introduite dans un tube de pyrex, avec un petit filtre de laine de quartz : le tube est chauffé. En passant sur la laine, les vapeurs de mercure se purifient puis se recondensent dans la partie plus froide du tube. L'opération est montrée sur la figure 3.

Avant de commencer les mesures de radioactivité, les billes sont pesées - pour connaître le rendement de la séparation radiochimique ; elles sont introduites dans des récipients de comptage en plastique. Le mercure est mis en solution pour une bonne géométrie de comptage, par 5 ml d'HNO_3. L'activité est mesurée par la surface du pic de 77 keV du ^{197}Hg : les interférences du ^{197m}Hg n'ont pas d'importance.

II.2.2. Résultats obtenus :

A titre d'échantillons d'analyse, nous avons recueilli plusieurs variétés de vigne et de raisin, des feuilles d'arbres fruitiers et quelques légumes. Ils sont répertoriés dans l'histogramme de la figure 4.

Les résultats montrent en particulier que le raisin contient beaucoup moins de mercure que les feuilles de vigne.

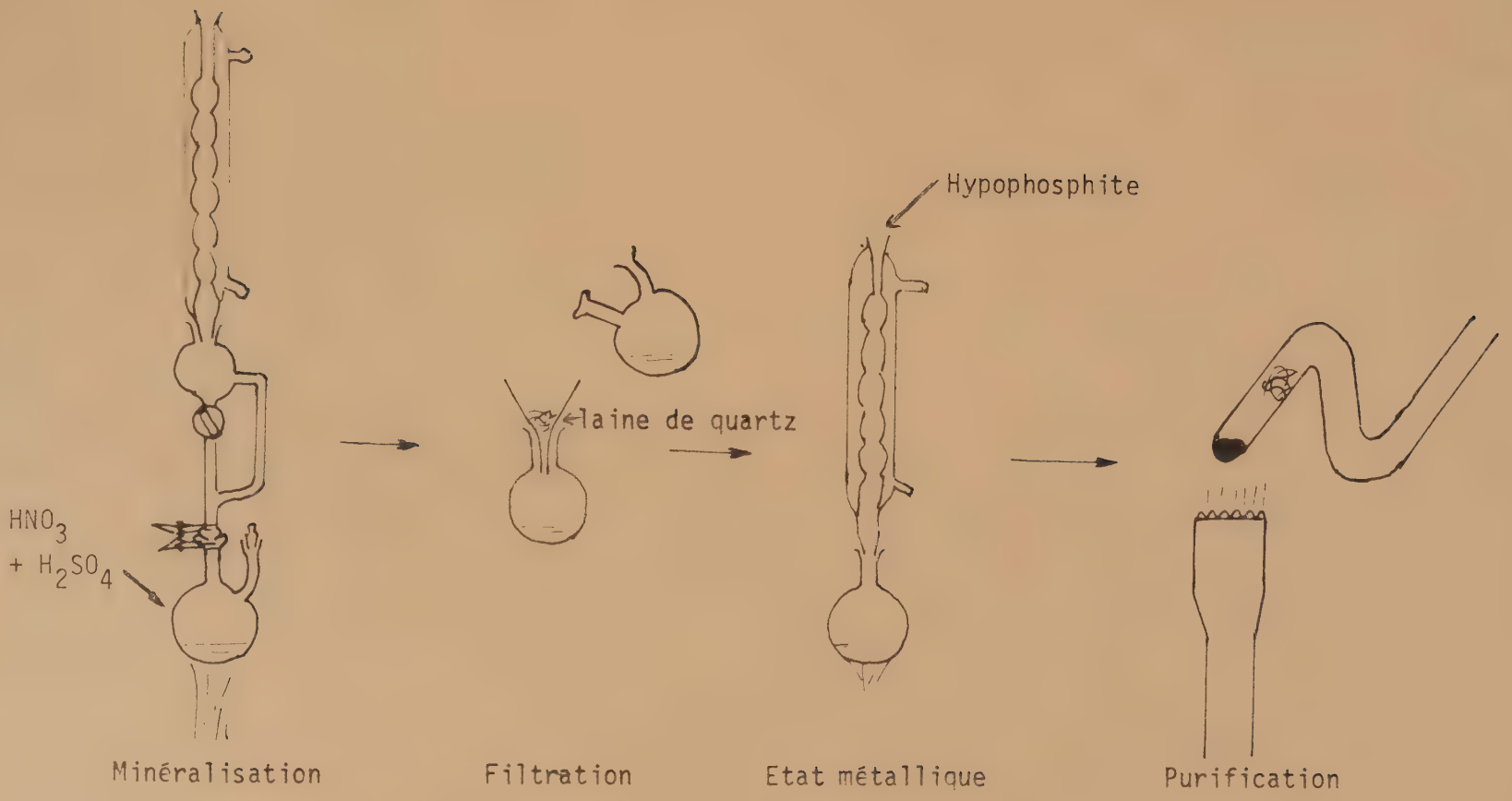
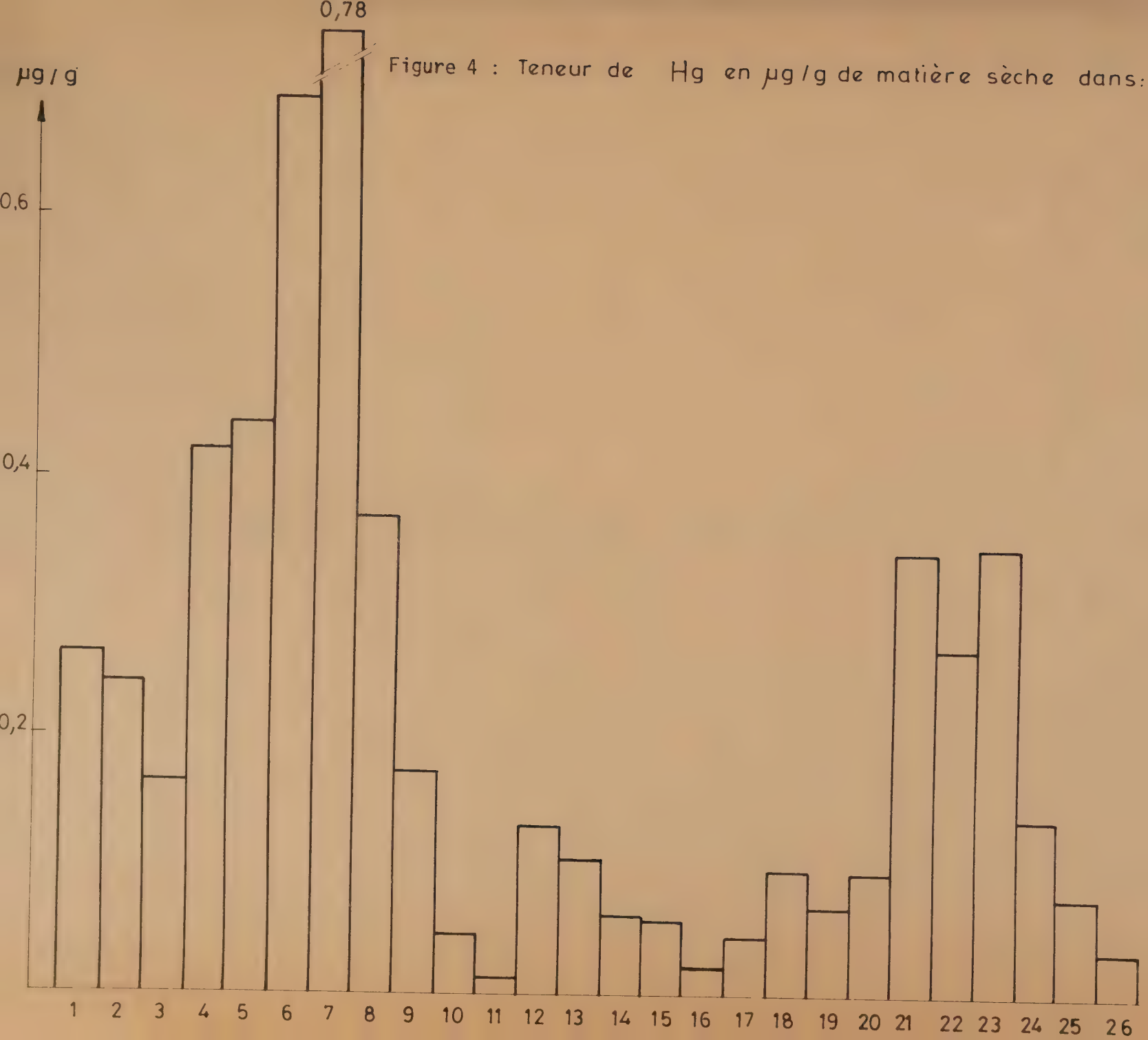


Figure 3 : Schéma de distillation du mercure.

Figure 4 : Teneur de Hg en µg/g de matière sèche dans:



1 - Vigne jacquère 20 ans
2 - Vigne jacquère 70 ans
3 - Vigne Blanchette
4 - Vigne 106 F
5 - Vigne 109 F
6 - Vigne 101
7 - Vigne 102
8 - Vigne 110 F
9 - Vigne 111 b
10 - Raisin 109 R
11 - Raisin 100 R
12 - Poirier
13 - Cognassier
14 - Cerisier
15 - Prunier
16 - Pêcher
17 - Pruneaux
18 - Chou rouge
19 - Chou ordinaire
20 - Chou fleur
21 - Cerfeuil
22 - Salade
23 - Carotte feuille
24 - Carotte racine
25 - Pomme d'hiver
26 - Pomme de Septembre

Dans le cas d'échantillons 1, 3, 12, 26, qui sont prélevés sur le même terrain, nous pouvons constater que les différences espèces végétales accumulent des quantités inégales de mercure et que le cerfeuil, la salade et les fanes de carotte accumulent cet élément beaucoup plus que les autres.

Le tableau n° III montre la teneur de mercure dans le tabac de cigarettes d'origine différente :

TABLEAU III

Tabac	Hg en µg par g	Moyenne
Français	0,065 0,057	0,061
Américain	0,036 0,035 0,010	0,037
Européen	0,058 0,055 0,055	0,056

Le tableau n° IV représente la teneur de mercure dans deux sortes de farines, (valeur exprimée en µg par g de matière sèche).

Farine	Hg en µg par g	Moyenne
de boulanger	0,033 0,044 0,035	0,037
de luxe	0,010 0,012	0,011

Il semble que la quantité de mercure dépende de la manière dont chaque farine est préparée.

Le tableau V indique des résultats d'analyse de feuilles de vigne prélevées à différentes distances d'une autoroute :

TABLEAU V

Vigne	Distance	Moyenne ($\mu g.g^{-1}$)
109	12 m	0,44
110	30 m	0,37
111	115 m	0,17

Sans que la raison en soit connue, les résultats montrent que la quantité de mercure diminue avec la distance, d'un facteur 2 pour 100 m, ce qui correspond à d'autres résultats obtenus par BECHARD et coll. dans ce laboratoire, pour l'analyse de plomb. Dans ce dernier cas, le rôle bien connu du plomb tétraéthyle était en cause /5/.

II.3. Discussion :

Le mercure et ses composés chimiques sont utilisés depuis des siècles comme antiseptiques et anti-syphillitiques ; ils ont une action toxique comme purgatifs sur l'homme. L'amalgame est toujours utilisé par les dentistes. Dans l'agriculture moderne, qui demande la conservation de milliers de tonnes de blé, on emploie les fongicides à base de mercure. Il est bien évident qu'il faut observer certaines précautions pour l'utilisation des céréales traitées de cette manière rappelons-nous les incidents de l'an dernier en Irak (200 morts environ), à cause de farine provenant de blé traité. On utilise très largement les produits antiseptiques dans les industries du bois et pour la préparation des couleurs.

Tous ces exemples nous permettent d'imaginer l'entrée de ces produits dans la biosphère et leur accumulation dans les sols, les plantes, les animaux et les hommes. De nombreux travaux ont permis de déterminer que la forme la plus toxique des produits à base de mercure est le méthyl-mercure. Le tableau VI montre les résultats obtenus en Suède en ce qui concerne la quantité totale de mercure et le pourcentage de méthyl-mercure sur cette quantité totale, pour quelques aliments.

TABLEAU VI : MERCURE TOTAL ET METHYL-MERCURE DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES SUEDOIS /63/

Aliments	Mercure total (ppm)	Méthyl-mercure en % du mercure total
Viande de boeuf	0,074	92
Volaille	0,023	74
Foie de porc	0,130	73
" "	0,096	78
Jaune d'oeuf	0,010	50
" "	0,010	90
Blanc d'oeuf	0,012	92
" "	0,025	96
Muscle de porc	0,22	91
" "	3,25	92
" brochet	3,35	93
" "	0,56	98
" cabillaud	0,064	86
" "	0,026	85

Le tableau VII représente la quantité totale de mercure dans du blé d'origines différentes, d'après KIM /39/ :

TABLEAU VII : MERCURE TOTAL DANS LE BLE /39/

Origine	Mercure (ppm)
Brésilien	0,075
Canadien	0,034
Français	0,250
Allemand	0,081
Indien	0,024
Japonais	0,150
Pakistanais	0,035
Egyptien	0,037
U.S.A. :	
Kansas	0,060
Texas	0,029
Ohio	0,023
Oklahoma	0,054
Montana	0,068
Nebraska	0,057

En raison de la grande toxicité des produits dérivés du mercure et de ses applications, il est nécessaire de réaliser un contrôle permanent de l'accumulation du mercure dans les plantes, les sols, les produits alimentaires.

Nos propres résultats nous permettent de conclure que nous avons dosé le mercure dans toutes les plantes et les aliments que nous avons analysés : comme origine du mercure, on peut considérer la pollution industrielle (cas du tabac), la pollution atmosphérique (par les gaz d'échappement des voitures, cf. tableau V), la pollution agricole (teneurs élevées dans certaines vignes) et l'origine naturelle, provenant du sol.

La méthode d'analyse par radioactivation, pour le dosage du mercure, permet une grande précision - 0,003 ppm (teneur trouvée dans les céréales) - /62/ ; en outre elle rend possible en même temps l'irradiation de 234 échantillons /40, 59 7 : c'est une méthode "express".

II.4. Le cas du brome et de l'arsenic :

Pour la détermination du brome et de l'arsenic, nous avons été obligé de modifier la méthode de FER et FOURCY dans le cas où l'échantillon contient une quantité relativement élevée de brome par rapport à celle d'arsenic [21]. La méthode a fait l'objet d'une publication [31] dans les comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de Bulgarie. La figure 5 montre le schéma de l'installation de séparation. Le temps de séparation du brome et d' l'arsenic pour un échantillon est de 30 minutes environ pour chaque élément.

Les échantillons et étalon ont été irradiés pendant 16 heures dans un flux de 10^{12} $n.cm^{-2}.s^{-1}$ (pile Mélusine). L'activité des échantillons a été mesurée sur les radionucléides ^{82}Br et ^{76}As (voir tableau VIII [42]) :

TABLEAU VIII : RADIONUCLEIDES EMPLOYES POUR LA DETERMINATION DU BROME ET DE L'ARSENIC

Réaction (n,γ)	Section efficace (b)	Période (h)	Réactions interférentes
$^{81}Br(n,\gamma)^{82}Br$	3,1	35,8	$^{82}Kr\ (n,p)^{82}Br$ a $^{85}Rb\ (n,\alpha)^{82}Br$ a $^{80}Se\ (n,\gamma)^{81}Se\ \beta^- \ldots\rightarrow\ ^{81}Br$ a
$^{75}As(n,\gamma)^{76}As$	5,4	26,4	$^{76}Se\ (n,p)^{76}As$ a $^{79}Br\ (n,\alpha)^{76}As$ a $^{74}Ge\ (n,\gamma)^{75}Ge\ \beta^- \ldots\rightarrow\ ^{75}As$ a

a = en général négligeable.

II.5. Résultats obtenus :

Les résultats concernant le brome accumulé par plusieurs plantes, sont exposés sur l'histogramme de la figure 6 pour le brome, et ceux concernant l'arsenic, sur l'histogramme de la figure 7. Les échantillons numérotés de 1 à 15 sont prélevés sur le même terrain et montrent que :

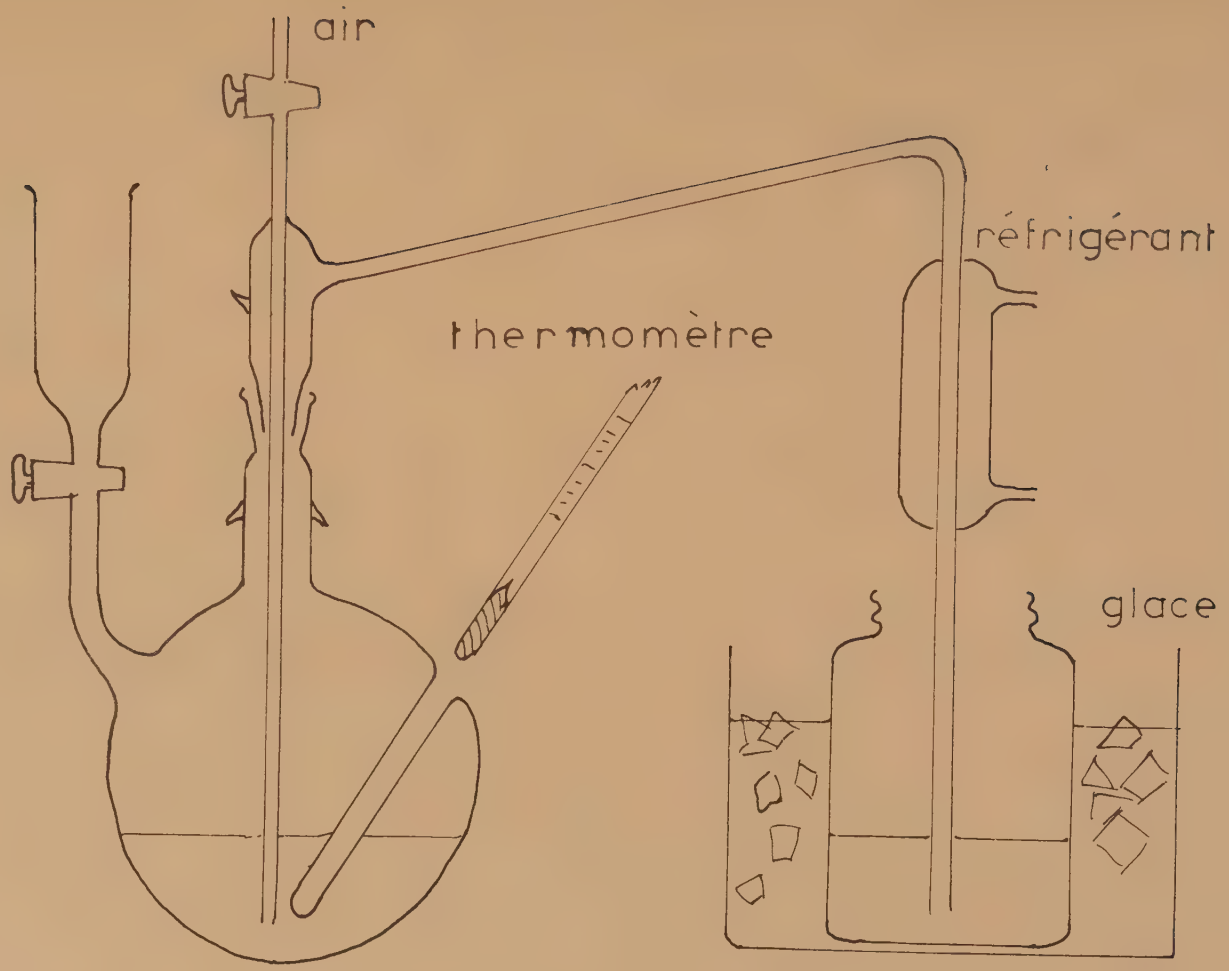
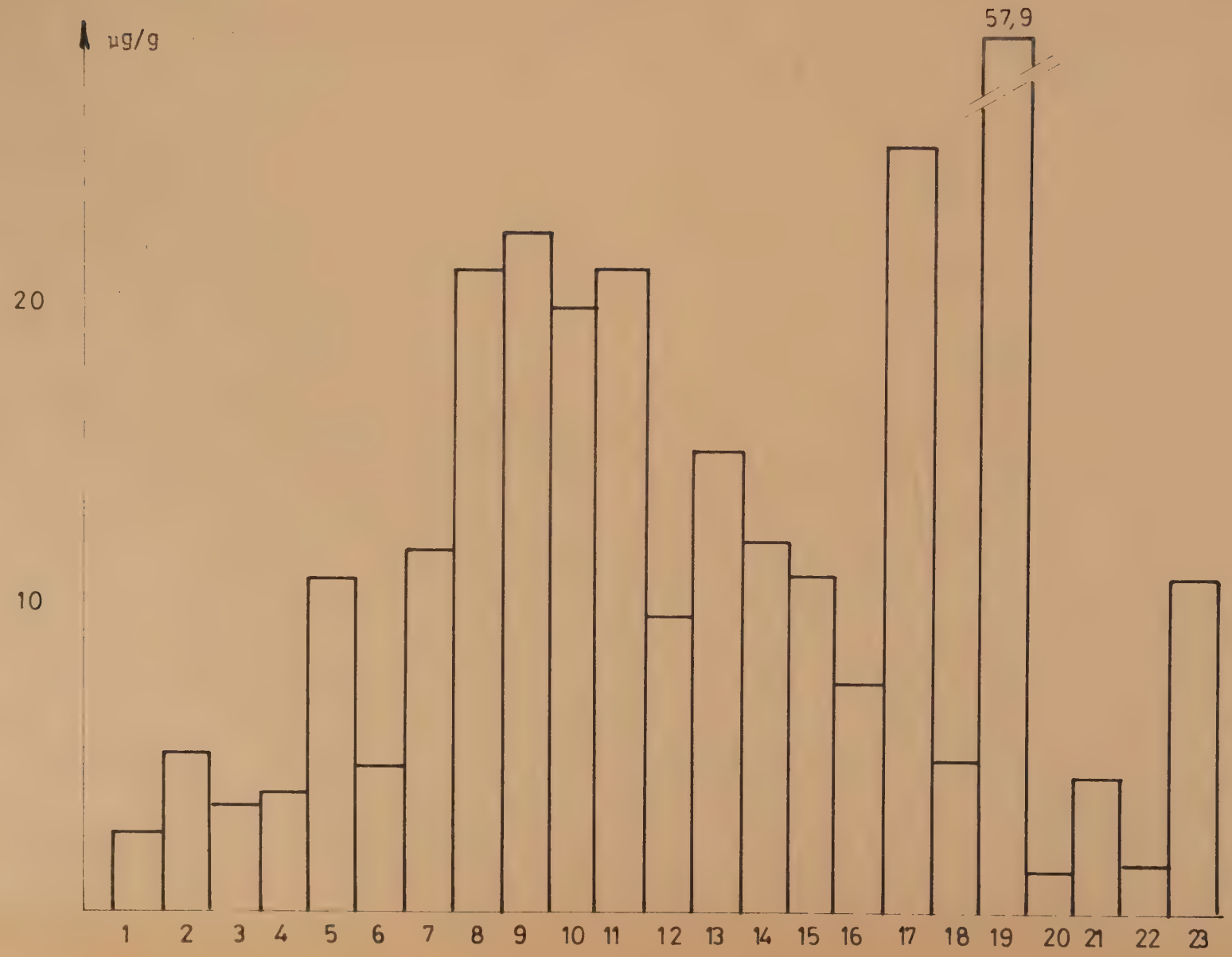


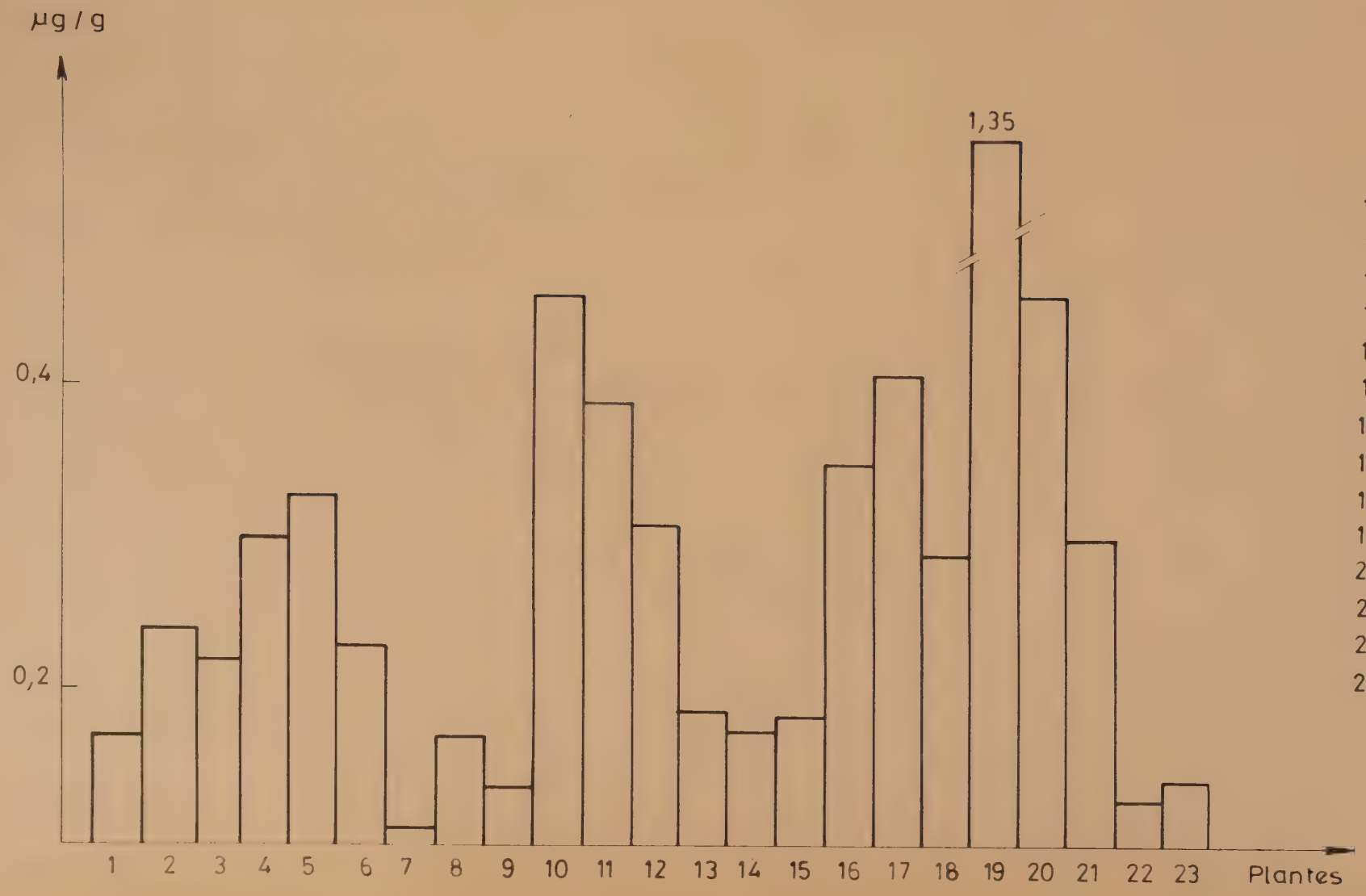
Figure 5 : Schéma du ballon à distiller permettant l'introduction des réactifs et un contrôle de température.

Figure 6 : Teneur de Br en µg / g de matière sèche dans :



1 - Poirier
2 - Cerisier
3 - Prunier
4 - Pêcher
5 - Pruneaux
6 - Cognassier
7 - Chou rouge
8 - Chou ordinaire
9 - Chou fleur
10 - Cerfeuil
11 - Salade
12 - Carotte feuille
13 - Vigne jacquère 20 ans
14 - Vigne Blanchette
15 - Vigne jacquère 70 ans
16 - Vigne 106 F
17 - Vigne 109 F
18 - Vigne 101
19 - Vigne 102
20 - Vigne 110 F
21 - Vigne 111 b
22 - Raisin 109 R
23 - Raisin 100 R

Figure 7 : Teneur de As en µg/g de matière sèche dans :



1 - Poirier
2 - Cerisier
3 - Prunier
4 - Pêcher
5 - Pruneaux
6 - Cognassier
7 - Chou rouge
8 - Chou ordinaire
9 - Chou fleur
10 - Cerfeuil
11 - Salade
12 - Carotte feuille
13 - Vigne jacquère 20 ans
14 - Vigne Blanchette
15 - Vigne jacquère 70 ans
16 - Vigne 106 F
17 - Vigne 109 F
18 - Vigne 101
19 - Vigne 102
20 - Vigne 110 F
21 - Vigne 111 b
22 - Raisin 109R
23 - Raisin 100R

- dans le cas du brome, les feuilles d'arbres fruitiers retiennent environ 4 µg par g de matière sèche, tandis que les légumes atteignent 22 µg par g et que, pour la feuille de vigne, ce taux varie de 2 à 57 µg par g ;

- dans le cas de l'arsenic, les teneurs obtenues sont variables : pour les arbres elles atteignent 0,2 µg par g ; pour les légumes, elles s'établissent comme suit : 0,36 $\mu g.g^{-1}$ (cerfeuil), 0,29 $\mu g.g^{-1}$ (salade) ; et pour la vigne elles vont jusqu'à 1,35 $\mu g.g^{-1}$. La quantité d'arsenic dans le raisin est bien moindre que dans les feuilles de vigne.

Le tableau IX montre les teneurs en brome et arsenic dans des tabacs d'origine différente :

TABLEAU IX : TENEUR EN Br et As DANS 3 SORTES DE TABAC A CIGARETTES (en µg par g de matière sèche)

Tabac	Brome (en $\mu g.g^{-1}$)	Moyenne	Arsenic (en $\mu g.g^{-1}$)	Moyenne
112	72,4 71,5 72,0 70,0 73,5	72	0,73 0,78 0,90 0,84 0,73	0,80
113	93,4 91,6 88,8 96,1 87,6 84,0 94,2	90,8	0,28 0,29 0,30 0,25 0,29	0,28
114	145,8 146,9 130,1 150,2 129,5 144,7 117,0 137,7 141,8	138,2	0,79 0,96 0,82 0,97 0,76	0,86

Les teneurs élevées de brome peuvent être considérées comme un résultat de la préparation du tabac pour cigarettes : la fermentation, suivie d'une dessication, joue un rôle concentrateur. La teneur de brome naturel dans les sols atteint 10 µg par gramme (GUINN, V.P.) /337.

Le tableau X montre la teneur en brome et en arsenic dans des échantillons de farine :

TABLEAU X : TENEUR EN BROME ET ARSENIC DANS DIFFERENTES SORTES DE FARINES (en $\mu g.g^{-1}$ de matière sèche)

Farine	Arsenic ($\mu g.g^{-1}$)	Moyenne	Brome ($\mu g.g^{-1}$)	Moyenne
DE BOULANGERIE	0,02 0,01 0,09 0,036 0,18 0,06 0,088 0,13	0,077	9,7 11,3 11,7 11,5 12,7	11,4
DE LUXE	0,017 0,018 0,005 0,005 0,022 0,055 0,10 0,035	0,031	21,8 22,9 23,1 22,5 23,7	22,8

La quantité d'arsenic dans la farine de boulangerie est plus élevée que dans la farine de luxe, plus finement tamisée, tandis que, pour le brome, le résultat est plus favorable à la farine de boulangerie.

II.6. Discussion :

Le brome entre dans la composition de certains fongicides et insecticides. L'activité fongicide du bromure de méthyle CH_3Br est classique [51] ; les composés à base de brome (dibromotétrachloréthane) sont particulièrement utiles à la conservation des fruits après récolte. Comme insecticides et acaricides, on utilise le dibrome ou "Naled", de formule $C_4H_7O_4Cl_2Br_2$ et le bromophos, $C_8H_8O_3SPCl_2Br$. Le bromure d'éthylène, $BrCH_2CH_2Br$, est un insecticide employé pour les grains stockés et un nématicide pour le traitement des sols au pal injecteur, contre les nématodes qui attaquent les racines des céréales.

L'action de ces pesticides est très efficace, mais ils augmentent la quantité de brome dans les sols et dans les plantes, ce qui rend nécessaire le contrôle de ces dernières.

Les plantes poussant dans les sols non traités contiennent une petite quantité de brome (entre 0,1 et 5 ppm), qui dépend de la quantité de brome naturel dans les sols et dans l'eau d'irrigation, de la variété des plantes, etc., tandis que les plantes traitées atteignent 200 ppm [34]. Aux U.S.A., la norme de tolérance pour le brome est de 50 ppm pour les produits alimentaires ; au-dessus de cette teneur, ils sont suspects.

Les composés à base d'arsenic sont des insecticides importants en agriculture ; ils peuvent être très dangereux à cause de leur toxicité pour l'homme et les animaux, mais ont l'avantage de ne pas permettre aux parasites une accoutumance. On emploie encore les produits suivants [2] : arséniate de calcium, mélange d'arséniate tétracalcique As_2O_3, 4 CaO, et d'arséniate $(AsO_4)_2Ca_3$ avec une certaine proportion d'arséniate bicalcique. Le tableau suivant représente les résultats d'analyse par activation de l'arsenic dans divers produits d'origine végétale, d'après FOURCY [23], qui correspond à la teneur trouvée dans nos expériences :

TABLEAU XI : ANALYSE PAR ACTIVATION DE L'ARSENIC DANS DIVERS PRODUITS D'ORIGINE VEGETALE

Echantillon	Arsenic ($\mu g.g^{-1}$ de mat. sèche)
Pommes de la variété GOLDEN traitées à l'arséniate de plomb 4 mois avant la récolte :	
- épiderme :	4,48 ± 0,18
- pulpe :	0,50 ± 0,02
Pommes de la variété STARKING sans traitement à l'arsenic :	
- épiderme :	0,65 ± 0,03
Cigarettes américaines (marque non citée) :	0,96 ± 0,04
Cigarettes françaises "Gauloises" :	0,56 ± 0,02

Tous ces faits mettent en évidence la nécessité d'un contrôle de l'accumulation et des niveaux toxiques de brome et d'arsenic dans les plantes et les produits végétaux.

TROISIEME PARTIE

III - DOSAGE DU CUIVRE DANS LES VEGETAUX ET LES SOLS -

Le cuivre est un oligoélément indispensable et non toxique pour les végétaux aux doses habituelles. Il est utilisé massivement dans la lutte antifongique et, dans ce cas, les excès de cuivre, peu toxiques pour les végétaux supérieurs qu'ils protègent, ont tendance à s'accumuler dans les sols. Inversement, il arrive que certains sols ne fournissent pas assez de cuivre pour une alimentation végétale correcte, et, par conséquent, pour les animaux consommateurs.

La question du rôle physiologique du cuivre a commencé à être étudié dans la première moitié du XIXe siècle (MEISSNER, SARREAU, CHEVREUL, VAUQUELIN, etc.). A la suite des résultats de plusieurs travaux de chimie végétale et de toxicologie, il apparaît très vite que la présence du cuivre chez les végétaux est un fait constant et qu'il y en a dans toutes les parties des plantes /G. GUERITHAULT (32), FLEURENT et LEVI, MAQUENNE et DEMOUSSY/.

Le développement des études biochimiques permet de citer un grand nombre de molécules biologiques dans lesquelles le cuivre joue un rôle important (BOWEN /11/) : voir tableau XII, page suivante.

Par ces faits, on peut dire que le cuivre se manifeste comme un élément essentiel et indispensable pour les plantes et les animaux. Cependant, il y a peu de temps que sont mises en évidence les accumulations de cuivre dans les sols, jusqu'à des niveaux toxiques consécutifs à des traitements intempestifs ou des luttes antifongiques prolongées. Aux U.S.A., la toxicité du cuivre est apparue dans des orangeraies à la suite d'apports excessifs destinés à corriger une carence (REUTHER et SMITH /54/). A part cette maladresse, il faut reconnaître que, dans la plupart des cas, l'enrichissement en cuivre vient de l'utilisation en agriculture de produits phyto-sanitaires à base de sels et d'oxydes de cuivre.

TABLEAU XII : QUELQUES PROTEINES ET ENZYMES CONTENANT DU CUIVRE (d'après BOWEN)

Nom	Provenance
Haemocyanine	plasma d'invertébré
Azurine	*Bordetella*
Stellacyanine	*Rhus*
Plastocyanine	*Phaseolus*
Plastocyanine	*Chenopodium*
Plastocyanine	*Spinacia*
Umémycine	*Armoracia*
Laccase	*Polyporus*
Ascorbate oxydase	*Cucurbita*
Céruloplasmine	Plasma humain
Mono-amine oxydase	Plasma de boeuf
Di-amine oxydase	Rein de porc
Benzylamine oxydase	Plasma de porc
Galactose oxydase	*Polyporus*
Tyrosinase	*Neurospora*
Uricase	Foie/rein
Dopamine- β -hydroxylase	Cortico-surrénale de boeuf
Quercétinase	*Aspergillus*
Luciférase	*Diplocardia*
Albocupréine I	Cerveau humain
Albocupréine II	Cerveau humain
Mitochondrocupréine	Foie de nouveau-né
Cytocupréine	Cellules de mammifère
Nitrite réductase	*Neurospora*
Cytochrome-c-oxydase	Coeur de boeuf

L'objet de notre travail est l'accumulation du cuivre dans les sols de vignoble, et sa répartition entre plusieurs plantes (arbres fruitiers, légumes) qui poussent sur le territoire du vignoble. Le site exact est nommé "Les Abymes" (Savoie) (voir schéma de situation page suivante). Nous avons en premier lieu évalué les niveaux du cuivre déposé sur les feuilles de vigne par les traitements successifs et leur rémanence en fonction des conditions atmosphériques.

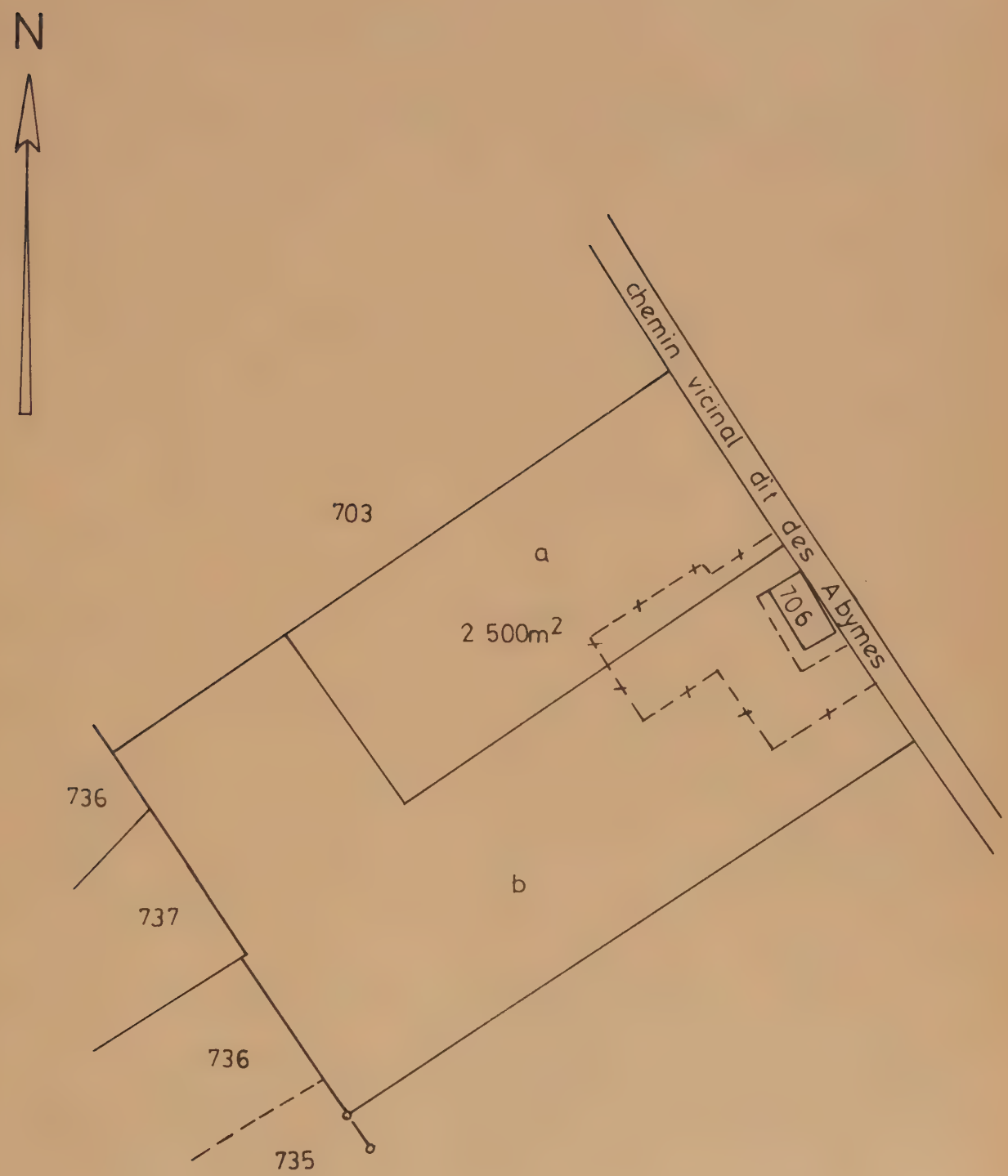
III.1. Choix de la méthode par radioactivation et mode opératoire :

L'utilisation de l'analyse par radioactivation pour l'analyse du cuivre n'est pas nouvelle : COMAR et coll. /14/, KJELLIN /41/ ont déjà effectué des analyses de cuivre dans les extraits animaux ou humains. Dans le domaine de l'agriculture, en France, la méthode a été mise au point, pour le dosage du cuivre en viticulture et dans les produits viticoles, par A. FOURCY /24/. Nous nous sommes inspiré de cette dernière méthode.

III.2. Conditions de nos expériences :

Le prélèvement des échantillons est effectué suivant un calendrier défini : avant un traitement cuprique, tout de suite après celui-ci, et quelques jours plus tard. Nous avons repéré, à l'aide de petites marques en plastique, seize points répartis dans le vignoble. Les échantillons de feuilles sont prélevés à trois niveaux, pour avoir une moyenne indépendante de la croissance plus ou moins rapide des feuilles. Des échantillons de sols sont également prélevés chaque fois, sur le même lieu, à 15 cm de profondeur.

Les échantillons ont été introduits dans des sacs de plastique pour le transport, puis dans les sacs de papier pour le séchage. Le broyage est fait suivant un procédé qui est décrit dans la deuxième partie de la thèse.



" LES ABYMES "

Figure 8 : Situation du vignoble où a été réalisée une partie des expériences

III.3. Préparation des échantillons :

La poudre homogénéisée des échantillons (sol ou feuilles) est introduite dans un récipient cylindrique en polyéthylène pur de 12 mm de diamètre et 24 mm de hauteur :

Figure 9 : Schéma du récipient cylindrique étanche.

Le poids de l'échantillon de poudre végétale est d'environ 150 mg et celui du sol, 200 mg. Pour l'étalon, nous avons utilisé une solution de cuivre à 100 µg par ml. Après avoir préparé échantillons et étalon, les récipients de polyéthylène sont introduits dans une cartouche de plastique, divisée en secteurs à l'aide d'ailettes. On peut mettre 20 échantillons et 1 étalon par cartouche.

III.4. Analyse par radioactivation non destructive :

Etant donné que les échantillons étudiés ont été prélevés dans un vignoble riche en cuivre, nous avons pu mesurer la quantité de cuivre par simple mesure gamma, après une irradiation cinq minutes au pneumatique dans les conditions suivantes :

- temps d'irradiation : 5 minutes ;
- flux de la pile en neutrons thermiques < 1 MeV : 5.10^{12} $\acute{n}.cm^{-2}.s^{-1}$;
- temps de refroidissement : 24 h ;
- temps de mesure : 5 minutes, sur NaI(Tl), et 10 minutes sur Ge-Li.

III.5. Préparation des échantillons pour les mesures :

Après le refroidissement, les échantillons activés (feuilles ou sols) ou une partie aliquote de ceux-ci, sont mis dans un tube de comptage en plastique et pesés exactement. Le poids de poudre végétale soumis au comptage est voisin de 20 mg ; celui des sols est voisin de 60 mg. On peut effectuer 200 dosages par jour.

III.6. Données concernant la réaction nucléaire utilisée :

- Nature : $^{63}Cu(n, \gamma)^{64}Cu$
- Abondance isotopique de ^{63}Cu : 69,09 %
- Section efficace aux neutrons thermiques : 4,3 barns.
- Emission de ^{64}Cu utilisée : β^+ (60 %)

Nota : Dans le cas de l'analyse, nous avons vérifié que l'émission β^+ mesurée venait bien principalement du ^{64}Cu. La courbe de décroissance radioactive de la figure 9 montre bien que la période expérimentale observée est celle du ^{64}Cu.

III.7. Résultats :

III.7.1. Cas de la vigne traitée :

Les moyennes des résultats obtenus par nos dosages sont représentées sur le tableau XIII (page 37). Les dates sur le tableau sont celles des prélèvements ; les chiffres de 1 à 16 représentent le numéro du lieu exact de prélèvement des échantillons.

Figure 9 : Décroissance expérimentale de ^{64}Cu.

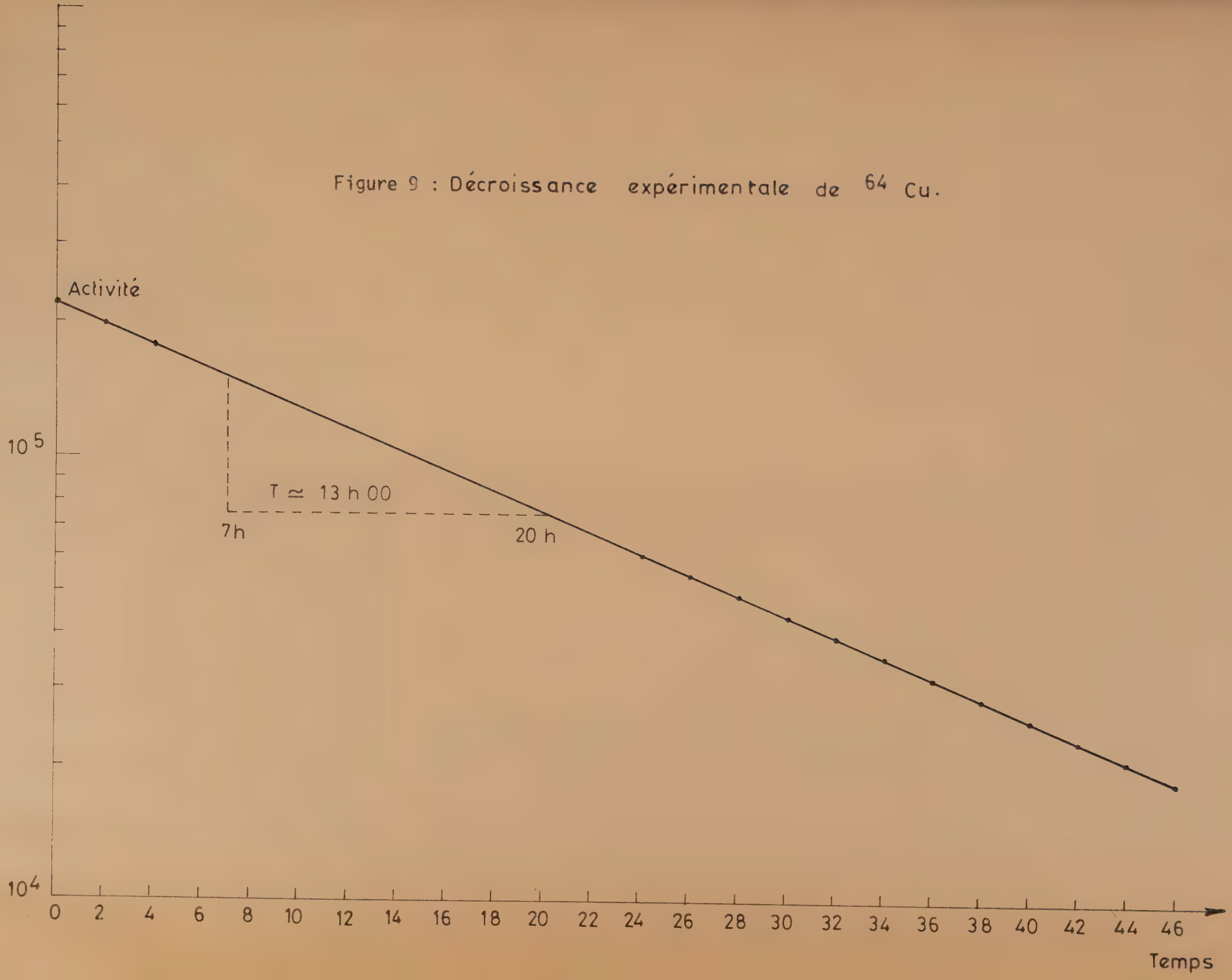


TABLEAU XIII : TENEUR EN CUIVRE DANS LES FEUILLES DE VIGNE
(en µg par g de matière sèche)

N°	24.06	8.07 (A)	8.07 (B)	25.07	5.08	4.09
1	513,4	240	814,9	291,2	873,8	768,2
2	168,7	126,4	865,0	250,6	1110,8	593,4
3	126,0	100,1	734,3	450,3	1199,2	1136,3
4	167,0	169,7	842,2	181,5	833,9	620,2
5	182,6	105,1	922,4	367,0	1073,8	775,2
6	292,0	193,7	1183,7	446,0	1149,4	622,8
7	297,4	129,2	465,9	292,2	1128,1	1067,6
8	96,4	66,1	523,5	173,5	718,9	654,5
9	128,0	159,1	815,7	196,2	488,4	352,9
10	333,0	190,9	1323,9	287,4	517,4	818,4
11	366,4	197,5	2481,5	600,6	1231,7	925,0
12	365,5	362,8	1015,2	386,0	1087,2	1075,2
13	435,6	115,5	1690,7	176,7	1710,8	1541,2
14	328,5	411,4	1414,7	398,4	1470,9	1058,5
15	472,1	135,6	1321,2	491,2	1427,8	712,7
16	745,5	209,5	1187,7	663,3	1226,7	860,4
Moyenne	313,0	182,0	1100,1	353,2	1059,0	850,7

L'expérience a été commencée quelques jours après le troisième traitement du vignoble ; les résultats montrent une décroissance de la quantité de cuivre sur les feuilles jusqu'au traitement du 8 juillet 1972 ; après ce traitement, la moyenne des résultats montre que la quantité de cuivre est montée de 182 µg par g à 1100,1 µg par g. Ceci est suivi d'une autre décroissance du niveau de cuivre sur les feuilles jusqu'à la date du 25 juillet : 353 µg par g. Les deux derniers dosages montrent clairement que la rémanence du traitement cuprique sur les feuilles dépend des conditions atmosphériques : pendant les mois d'août et

septembre, plutôt secs, le niveau de cuivre mesuré n'a baissé que faiblement. Les résultats représentés sur le tableau sont les moyennes de 5 dosages pour chaque échantillon ; les teneurs trouvées correspondent bien aux résultats obtenus en 1964 dans notre laboratoire par FOURCY /24/, selon tableau ci-dessous :

TABLEAU XIV : MOYENNE DES DOSAGES EFFECTUES POUR CHAQUE PRELEVEMENT

Type de prélèvement	n°	Teneur en cuivre rapportée au poids sec
Feuilles avant traitement :	1	10,0 g/g
Feuilles en cours de traitement, du 31 mai au 19 juillet 1964 :	2	1055, "
	3	1286 "
	4	465 "
	5	1983 "
	7	1063 "
Grains du raisin :	6a	22,8 "
	8a	29,8 "
Rafles des mêmes raisins :	6b	97,5 "
	8b	100,5 "
Jus à la vendange 1964 :	9a	1,69 g/cm3
	9b	1,64 "
	9c	3,97 "
	9d	1,52 "
Vin 1963 :	10	0,11 "

III.7.2. Cas de l'accumulation du cuivre dans les sols :

Ayant été signalée il y a longtemps par MAGUENNE et DEMOUSSY (1919) /49/, l'accumulation du cuivre dans les sols a commandé à attirer l'attention dans les dix dernières années ; depuis, elle a fait l'objet d'analyses dans toutes les parties du monde et dans des types de sols très différents :

- pays viticoles d'Europe : Allemagne (GÄRTEL, 1957 /28/), Italie (BAROCIO et SAPONARO, 1960 /4/, CERVATO, 1958), France (ANDRE, 1959 ; ANNE et DUPUIS, 1953 ; DELAS et coll., 1959 ; DEPARDON et BURON, 1955 ; DROUINEAU et MAZOYER, 1953 ; MICHEL, 1948) ; Grande-Bretagne : HIRST et coll., 1961 ; NICHOLAS et FORSTER, 1951 ; WALLACE et HEWITT, 1946 ;
- pays viticoles d'Amérique du Sud : CASTILLO et PARRA, 1959 ; ou d'U.R.S.S. : TIMOSHENKO, 1959 ;
  etc...

Le tableau XV donne des chiffres de cuivre total trouvé dans la couche supérieure du sol par différents auteurs :

TABLEAU XV : TENEUR EN CUIVRE TOTAL DE LA COUCHE LABOUREE DE DIVERS SOLS (d'après DELAS /17/)

Origine et type de sol	Cu total en mg/kg	Références bibliographiques
U.R.S.S., Moldavie, tchernoziom	80	TIMOSHENKO, 1959
U.S.A., Floride, sableux . . .	250	REUTHER et SMITH, 1954
France, Loir-et-Cher, alcalin	280	DEPARDON et BURON, 1955
Italie, limono-sableux	333	CERVATO, 1958
France, Alsace, calcaire . . .	401	ANNE et DUPUIS, 1953
France, Bourgogne, argilo-sabl.	453	MICHEL, 1948
Italie, argilo-limoneux . . .	544	BAROCIO et SAPONARO, 1960
France, Gironde, boulbène . .	845	DELAS et coll., 1960
Allemagne, Moselle	1280	GÄRTEL, 1957

Les chiffres élevés rapportés dans ce tableau peuvent être considérés comme des valeurs de référence d'un enrichissement excessif en cuivre.

Les résultats de notre expérience sont indiqués sur le tableau XVI.

TABLEAU XVI : TENEUR EN CUIVRE DANS LE SOL
(en µg par g de matière sèche)

N°	24.06	8.07 (A)	8.07 (B)	25.07	5.08	4.09
1	619,3	711,7	678,6	719,3	632,9	592,5
2	498,6	380,2	831,3	405,9	616,1	418,4
3	562,7	507,9	495,7	395,3	550,9	470,2
4	678,4	324,1	444,0	351,2	372,6	391,4
5	390,0	562,9	552,2	409,6	505,5	410,6
6	506,9	539,3	503,8	690,7	443,6	605,9
7	406,9	371,9	398,5	463,3	575,1	510,7
8	618,5	658,2	635,8	486,5	480,6	559,5
9	814,1	657,8	678,5	855,6	697,1	788,1
10	679,3	369,2	468,8	503,8	623,2	559,1
11	920,00	1010,9	1010,9	1182,6	1061,3	936,1
12	941,2	995,2	980,0	1017,8	1049,0	1012,4
13	439,9	421,6	648,1	593,6	592,5	568,8
14	938,2	693,4	762,0	751,5	891,3	599,8
15	526,8	772,5	816,8	584,8	1120,4	676,0
16	724,2	664,9	866,2	868,4	604,9	534,2
Moyenne	641,6	602,8	673,2	642,5	675,7	603,1

La teneur en cuivre de 640 g par g de sol montre que la partie superficielle à une profondeur inférieure à 15 cm, retient une quantité pratiquement constante de cuivre, indépendante des apports intermittents venant des traitements. Cela correspond aux résultats obtenus par REUTHER et SMITH /55/, GÄRTEL /28/, DELAS /18/ qui montrent que le cuivre se fixe bien dans la couche labourée du sol et beaucoup moins dans les horizons inférieurs, selon le tableau XVII (page suivante).

TABLEAU XVII : FIXATION DU CUIVRE EN SURFACE DES SOLS
(d'après DELAS /18/)

Profondeur (cm)	Cu total (mg/kg)	Profondeur (cm)	Cu total total (mg/kg)	Profondeur (cm)	Cu échangeable à l'acétate d'NH_4 pH7 (mg/kg)	Profondeur (cm)	Cu échangeable à l'acétate d'NH_4 pH 7 (mg / kg)
0-15	197	0-20	768	0-25	170	0-25	200
15-30	57	20-40	22	23-50	25	25-50	74
30-45	10	40-60	54	50-75	traces	50-75	traces
45-60	5	60-80	76				
REUTHER et SMITH Floride, U.S.A.		GÄRTEL Moselle, Allemagne		DELAS Médoc, France		DROUINEAU Reyran, France	

III.7.3. Cas des arbres fruitiers et des légumes :

Dans le cadre de notre travail, nous avons étudié l'accumulation du cuivre dans quelques arbres et quelques légumes poussant sur le terrain du vignoble. La terre de ce vignoble, comme nous l'avons montré, contient environ 640 µg de cuivre par g de sol sec.

Nos résultats apparaissent sur l'histogramme de la figure 10 : la teneur en cuivre des feuilles d'arbres fruitiers atteint 20 à 26 µg par g, tandis que pour certains légumes comme le cerfeuil, la salade et les fanes de carottes, elle est d'environ 50 µg par g de matière sèche.

III.8. Discussion :

Les résultats obtenus nous permettent d'accroître nos connaissances sur l'accumulation du cuivre dans différentes plantes poussant sur un sol uniformément enrichi en cuivre par traitements pesticides : nous pouvons le considérer comme une limite supérieure de l'accumulation du cuivre, sans observation d'effets toxiques sur les plantes étudiées.

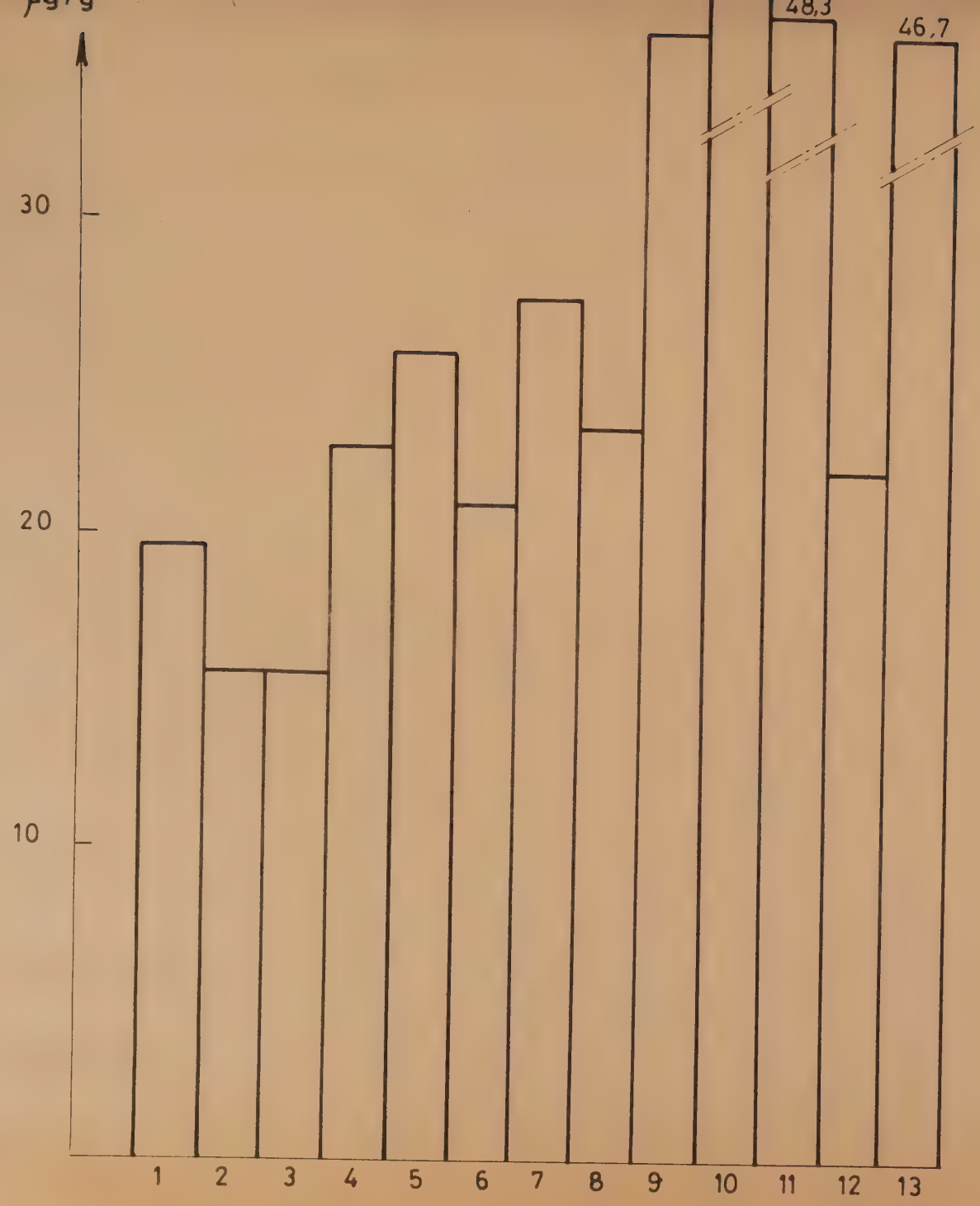


Figure 10 :
Teneur de Cu dans les plantes qui poussent sur le territoire d'un vignoble en µg /g de matière sèche

1 - Poirier
2 - Cerisier
3 - Prunier
4 - Pêcher
5 - Pruneau
6 - Cognassier
7 - Chou-rouge
8 - Chou ordinaire
9 - Chou - fleur
10 - Cerfeuil
11 - Salade
12 - Carotte racine
13 - Carotte feuille

Les résultats correspondent à ce qui est obtenu par d'autres auteurs pour la quantité de cuivre qui se dépose sur les feuilles de vigne pendant les traitements avec les produits cupriques.

Il est intéressant de souligner aussi que, malgré la quantité importante de cuivre qui reste sur les feuilles, (environ 1000 µg/g) et dans la terre (640 µg/g) on trouve dans le vin environ 0,11 µg/cm3, car, lors de la clarification, le cuivre reste lié au précipité /24/.

La méthode citée est rapide et permet d'effectuer plusieurs analyses par jour.

QUATRIEME PARTIE

IV. ANALYSE MULTIELEMENTAIRE DES MINERAUX DANS LES PLANTES A L'AIDE D'UN DETECTEUR AU GERMANIUM-LITHIUM -

Chacun sait que l'apparition de la vie dépend des matériaux élémentaires de la croûte terrestre. Donc, les êtres vivants sont composés des éléments chimiques et se trouvent avec eux en contact permanent : les plantes poussent sur le sol, elles servent d'aliments aux hétérotrophes dont font partie les animaux et l'homme. Il est révélateur d'étudier la composition minérale des organismes vivants. De nombreuses études remontant au siècle dernier ont permis de constituer une liste des principaux éléments présents : ce sont les éléments majeurs (C, H, O, N, P, S, Cl, Na, K, Ca, Mg) qui représentent au total 99,96 % de la matière sèche, et les éléments mineurs, ou oligoéléments, pour lesquels ne reste que 0,04 % en poids.

Nous avons consacré nos études aux éléments traces ou microéléments ; certains d'entre eux peuvent être jugés comme indispensables pour la vie et le fonctionnement des organismes : ce sont les oligoéléments proprement dits. Ils font partie de la composition chimique des molécules biologiques.

Nous avons voulu étudier le niveau minimum de quelques-uns de ces éléments dans :

- les différentes plantes poussant sur la même variété de sol ;
- les plantes de même espèce mais poussant sur différents sols.

Pour nos expériences, nous avons employé la chaîne décrite dans la première partie de cette thèse. L'élaboration de grands détecteurs semi-conducteurs Ge-Li nous a permis d'effectuer le dosage simultané de dix micro-éléments dans les plantes.

IV.1. Régime d'activation des échantillons et des étalons :

Après les avoir introduits dans des capsules de quartz scellées, nous les irradions dans la pile Mélusine au flux de 10^{13} $n.cm^{-2}.s^{-1}$ pendant une semaine. L'irradiation est suivie d'un temps de décroissance radioactive d'une semaine.

IV.2. Composition des étalons :

Après avoir irradié quelques échantillons pour savoir quel élément nous pouvions doser au régime d'activation ci-dessus, nous avons préparé un étalon composé de dix éléments :

TABLEAU XVIII : COMPOSITION MINERALE D'UN ETALON COMPLEXE REALISE PAR NOS EXPERIENCES

Eléments	Fe	Zn	Co	Cr	Rb	Ba	Sr	Eu	Sc	Cs
Quantité en $\mu g.ml^{-1}$	100	100	0,4	1	20	10	20	0,5	0,5	0,76

IV.3. Minéralisation :

Les ampoules de quartz, après "refroidissement" d'une semaine, sont nettoyées dans l'acide nitrique concentré, dans l'eau, puis séchées, mises au froid dans l'azote liquide, cassées dans une petite enveloppe de polyéthylène et introduites dans les ballons de minéralisation. Cette minéralisation n'est pas toujours indispensable au principe de l'analyse multiélémentaire (nous en donnons les raisons au § IV.4).

La minéralisation par voie humide est le procédé le plus utilisé sur matières activées : elle consiste à détruire la matière organique par un mélange d'oxydants acides ; on obtient alors une solution de sels. L'opération peut être menée à température relativement basse (une centaine de degrés, par exemple)

et les pertes sont négligeables. Nous avons utilisé le mélange sulfo-nitrique (5 ml H_2SO_4 + 20 ml HNO_3). Après minéralisation, les échantillons et l'étalon sont introduits dans les récipients de comptage standard. On rince les ballons de minéralisation avec une solution d'acide nitrique 1 N.

IV.4. Raisons de la minéralisation :

Bien que la méthode ne comporte pas de séparation radiochimique, nous avons eu quelques raisons d'effectuer une minéralisation avant le comptage :

- l'étalon est sous forme liquide et l'échantillon est, à l'origine, une poudre végétale ;
- par la minéralisation, on obtient que tous les deux soient sous forme liquide ;
- il est plus facile d'ajuster le volume de l'un par rapport à l'autre afin de réaliser les conditions d'une bonne géométrie de comptage ;
- c'est le meilleur moyen d'éliminer l'influence des ampoules de quartz dans lesquelles sont irradiés les échantillons.

IV.5. Méthode de mesure et spectres obtenus :

Chaque échantillon est soumis à un comptage de 3 heures, sur porte-échantillon automatique ; les résultats sont enregistrés sur cassette magnétique et envoyés pour dépouillement dans la mémoire d'un calculateur. Les spectres, obtenus après la mesure des étalons et des échantillons, sont tracés sur papier à la demande. Sur les figures 11, 12, 13, 14 sont représentés les spectres obtenus pour l'étalon, un échantillon de feuilles de vigne et deux sortes de salade. Remarquons la différence entre les photopics provenant de la vigne et ceux de la salade.

IV.6. Dépouillement automatique de spectres gamma /DELOR, 19_7_/ :

La comparaison des spectres complexes aux spectres étalons se fait en "différé" par l'intermédiaire de caractéristiques qui doivent être inchangées. D'où les restrictions qui s'imposent quant à l'utilisation de l'ensemble : il est indispensable que soient conservée la géométrie (configuration de la source,

TÉMOIN

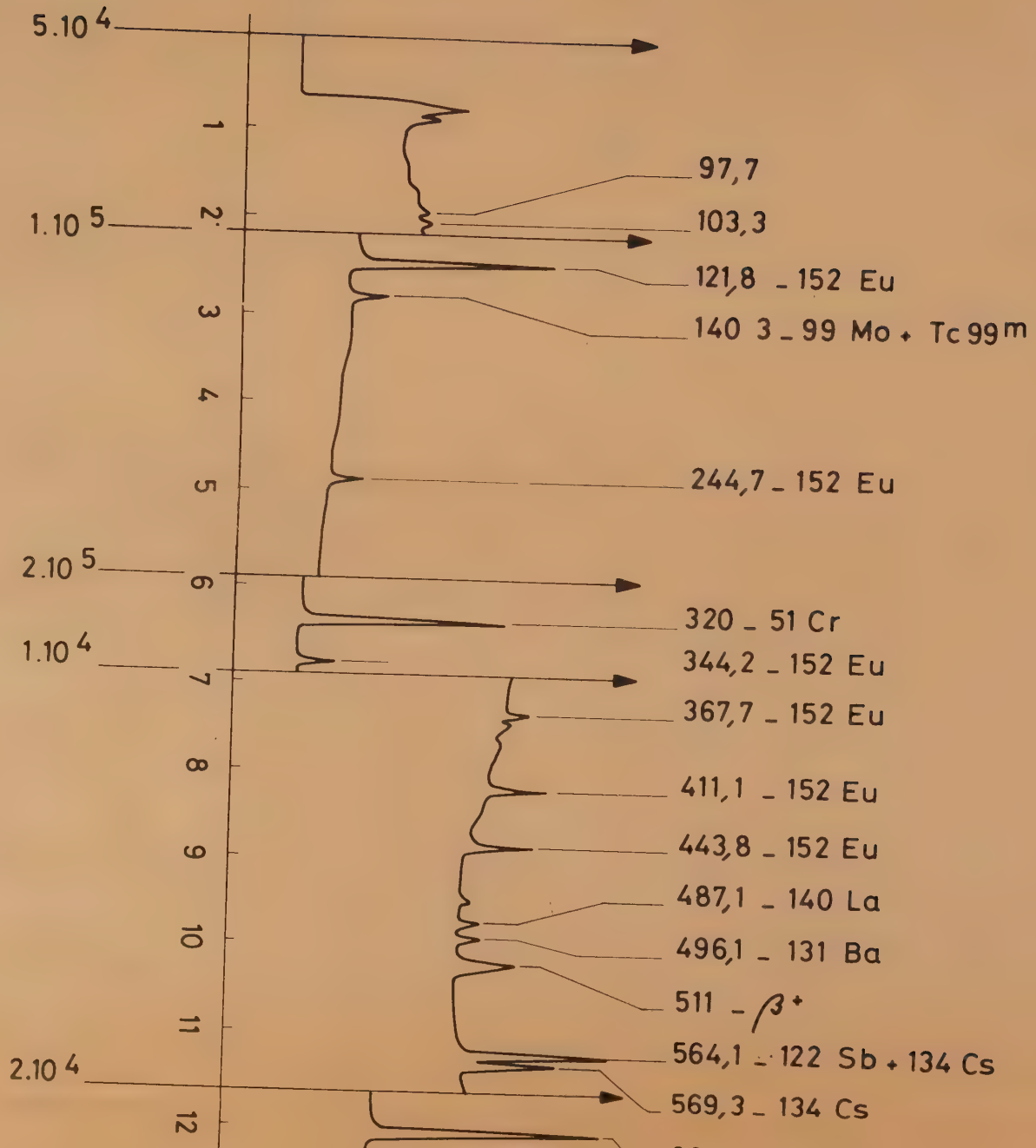

5.10 4
1.10 5
2.10 5
1.10 4
2.10 4
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
97,7
103,3
121,8 _ 152 Eu
140 3 _ 99 Mo + Tc 99m
244,7 _ 152 Eu
320 _ 51 Cr
344,2 _ 152 Eu
367,7 _ 152 Eu
411,1 _ 152 Eu
443,8 _ 152 Eu
487,1 _ 140 La
496,1 _ 131 Ba
511 _ β+
564,1 _ 122 Sb + 134 Cs
569,3 _ 134 Cs

Fig. 12 SPECTRE DE LA FEUILLE DE VIGNE A

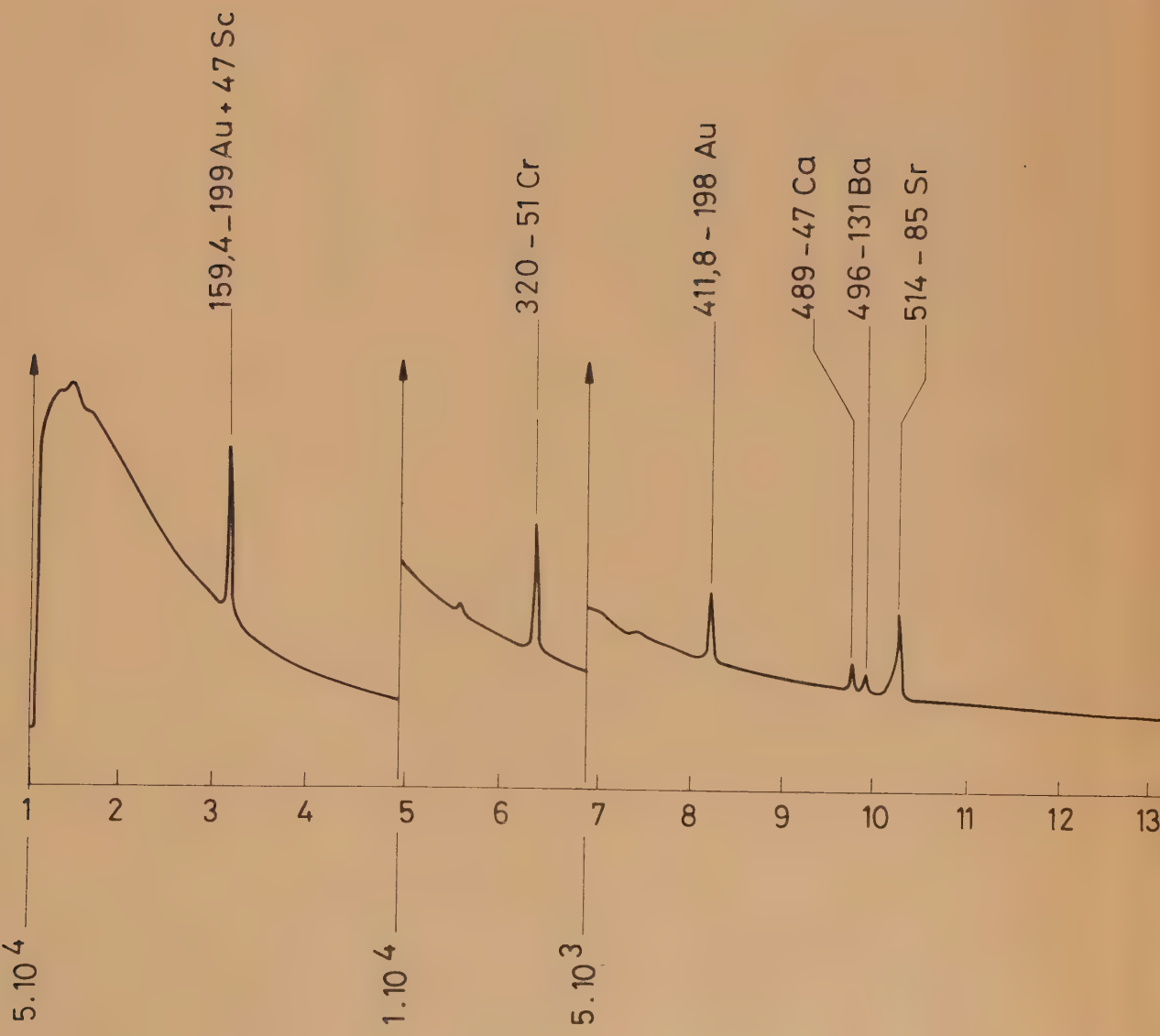


Fig. 13 SPECTRE DU CHOU ROUGE APRÈS

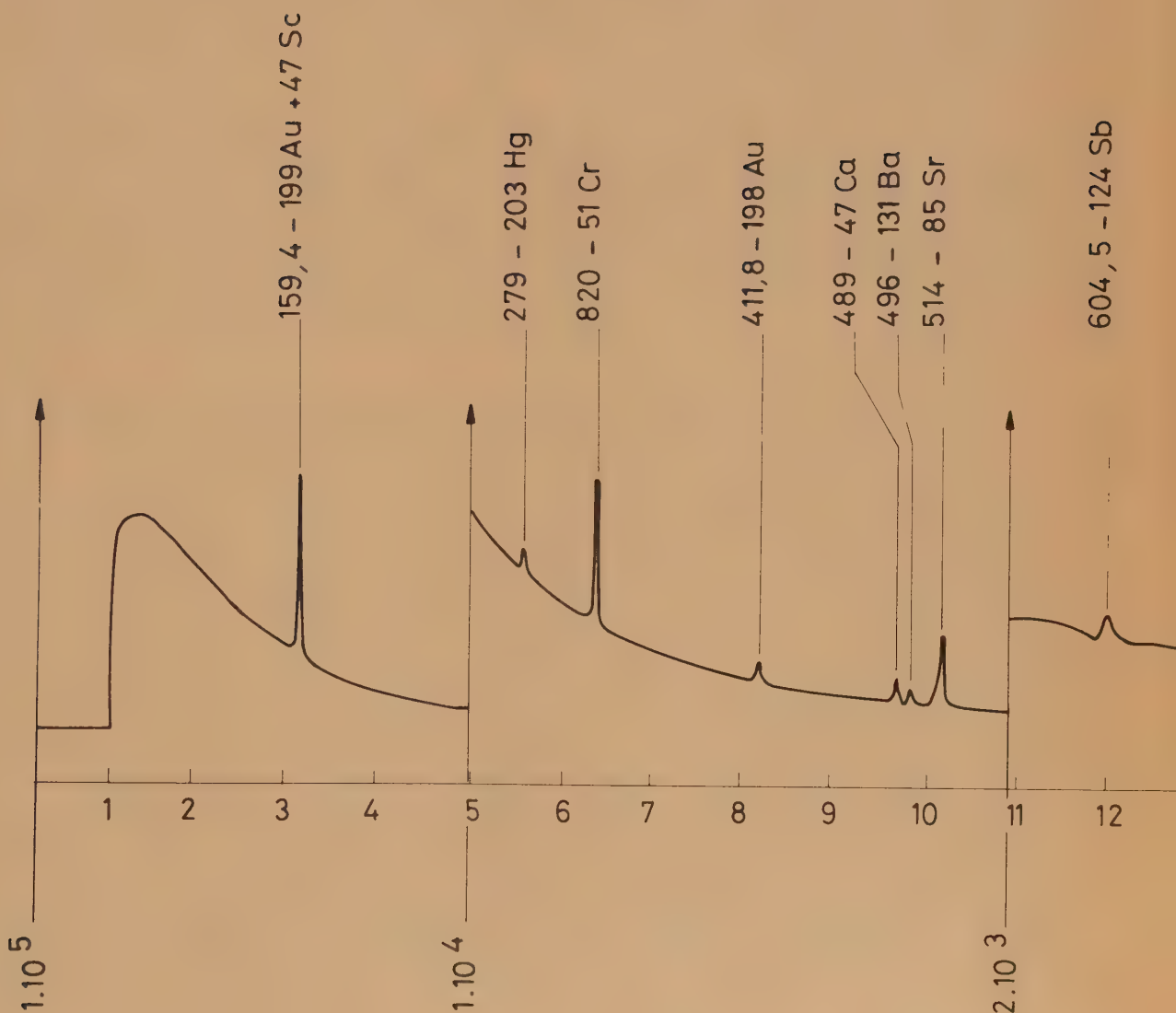


Fig-14 SPECTRE DU CHOU ORDINAIRE APRÈS

distance entre la source et le détecteur) et les réglages de la chaîne électronique. Etant donné le nombre d'informations à traiter (4000 canaux) les méthodes numériques envisageables ne peuvent se concevoir qu'en utilisant un calculateur digital.

Deux cas se présentent suivant que le spectre complexe est constitué par un mélange de nucléides connus (activité, temps de demi-vie, énergie gamma, pourcentage d'émission, etc.) ou inconnus.

Le spectre connu sert à la détermination des caractéristiques de la chaîne de mesure, condition indispensable à l'analyse qualitative et quantitative de spectres inconnus.

Dans les deux cas, le point de départ est le même : il s'agit de repérer les pics d'absorption totale et de calculer leurs paramètres. Le programme digital suit la même logique : dans une première séquence, il recherche les pics d'absorption totale ou supposée telle, ensuite, il détermine les paramètres des pics retenus (position des pics, surface, etc.).

IV.6.1. Hypothèse fondamentale ; recherche des pics significatifs :

Le pic est supposé représenté par une fonction gaussienne "montée" sur un bruit de fond linéaire. Cette hypothèse est bien sûr discutable. Il est bien évident que le passage de valeurs discrètes, le nombre d'impulsions dans les canaux, à une fonction continue, la gaussienne, est délicat mais inévitable si nous voulons connaître le sommet du pic avec une meilleure précision que le canal. Dans la méthode des moindres carrés non linéaires, que nous emploierons pour calculer les paramètres, le test χ^2 permettra de vérifier la validité de l'hypothèse faite. D'après la référence /38/ pour les basses énergies (en dessous de 2 MeV) le pic photoélectrique ou d'absorption totale est essentiellement gaussien ; aux énergies plus élevées, les effets de paire donnant des pics dits "de double échappement" deviennent prépondérants, des imprécisions sur les formes apparaissent.

IV.6.1.1. Principe :

D'après l'hypothèse précédente, un pic peut être représenté mathématiquement par l'équation suivante :

$$y = P(x) + B(x)$$

P(x) étant une fonction non linéaire représentant le pic proprement dit en fonction des canaux x,
B(x) représentant la base sous le pic, autrement dit, le bruit de fonc dû aux "Comptons", à l'ambiance du détecteur, etc.

Par hypothèse, B(x) est supposée linéaire. La dérivée première de y s'écrit :

$$y' = P'(x) + cte$$

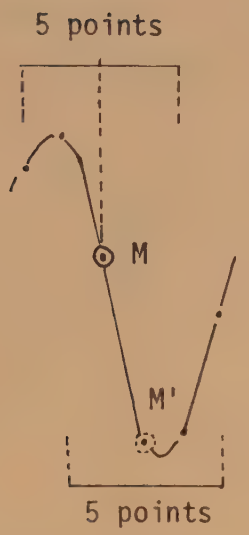
Si le pic est présent, y' doit prendre une valeur maximale sur son flanc gauche et minimale sur son flanc droit. L'existence de ce maximum et de ce minimum est un moyen de détection du pic. Une méthode semblable de localisation du pic employée par YULE /61/ tient compte du passage par zéro de la dérivée première à son sommet.

Nous retenons la première méthode qui consiste à calculer la dérivée canal par canal le long du spectre pour trouver les maxima et les minima. Dans la référence /58/, SAVITZKY et GOLAY exposent une méthode pour calculer l'ordonnée et la dérivée en tous les points d'un histogramme. Elle consiste à ajuster par moindres carrés un polynôme donné à un nombre de points expérimentaux pris de part et d'autre du point où doit être calculée cette dérivée. Prenons un exemple : soit le polynôme

$$y_c = a_3x^3 + a_2x^2 + a_1x + a_0$$

les coefficients a_1 sont tels que, lorsque dans l'équation, x est remplacé par l'abscisse du point considéré, le carré de la différence entre y_c estimé et y expérimental est minimum. Ceci suppose que, seule, l'ordonnée est entachée d'erreur.

Soit donc une série de 2m + 1 points expérimentaux, et M le point particulier :



- m ≤ x ≤ + m (sur le schéma, m est pris égal à 2)
- 2 ≤ x ≤ + 2

Normalisons, c'est-à-dire considérons le point M comme origine des abscisses, le polynôme au point M est égal à a_o et sa dérivée à a_1.

$$y_c = a_o \qquad y'_c = a_1$$

a_o et a_1 sont les coefficients trouvés par la méthode des moindres carrés. SAVITZKY et GOLAY montrent que l'évaluation de a_o et a_1 se réduit au calcul d'une somme de la forme :

$$a_i = \frac{1}{N} \sum_{i=-m}^{i=+m} k_i y_i$$

y_i = ordonnées des points ;
k_i = coefficients fournis dans des tables pour des polynômes de degrés différents;
N = facteur de normalisation fourni dans les tables.

Pour le calcul relatif au point suivant M', un glissement sur les points est effectué : le premier à gauche est abandonné, à droite, un autre est pris en compte. Cette translation s'effectue tout le long du spectre. Nous utiliserons cette méthode particulièrement adaptée au calcul numérique.

IV.6.1.2. Elimination des pics non significatifs :

BARNES, dans la référence /3/, suggère l'emploi du test de STUDENT sur la différence D entre la valeur de la dérivée maximale et la valeur de la dérivée minimale. Ce test de STUDENT t est donc égal à $\frac{D}{S}$, S écart-type de D. Il nous renseignera sur l'importance à accorder aux pics détectés. Etant donné les fluctuations statistiques, des valeurs de D non nulles peuvent être trouvées, mais ne pas signifier pour autant que les pics existent. La présence d'un pic sera directement liée à la valeur t calculée.

$$D = y'_{max} - y'_{min}$$

La valeur de la dérivée comme nous l'avons vu précédemment s'exprime de la façon suivante :

$$y' = \frac{1}{N} \sum_{i=-m}^{i=m} k_i y_i$$

Ainsi :

$$D = \frac{1}{N} \left(\left(\sum_{i=-m}^{i=+m} k_i y_i \right)_{max} - \left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i y_i \right)_{min} \right)$$

Si les y_i sont supposés distribués suivant une loi de POISSON, l'écart-type S s'écrit :

$$S = \frac{1}{N} \left[\left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i^2 y_i \right)_{max} - \left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i^2 y_i \right)_{min} \right]^{1/2}$$

$$t = \frac{\left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i y_i \right)_{max} - \left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i y_i \right)_{min}}{\left[\left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i^2 y_i \right)_{max} + \left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i^2 y_i \right)_{min} \right]^{1/2}}$$

Le test est d'autant plus important que le pic est petit, c'est-à-dire lorsque les y_i sont très voisins, Le dénominateur peut se simplifier en admettant que tous les y_i peuvent être remplacés par des valeurs centrales respectivement y_{max} et y_{min}.

$$t = \frac{\left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i y_i\right)_{max} - \left(\sum_{i=-m}^{i=m} k_i y_i\right)_{min}}{\left[\sum_{i=-m}^{i=m} k_i^2 \, (y_{max} + y_{min})\right]^{1/2}}$$

La confiance accordée à cette méthode de localisation est liée à la valeur de ce test de STUDENT. En dessous d'une certaine valeur de t, t_{lim} on considère les pics trouvés comme non significatifs.

Condition d'existence d'un pic valable : $t > t_{lim}$. Cette valeur t_{lim} est à fixer a priori par l'utilisateur ; elle dépend essentiellement du taux de comptage. Pour trouver la bonne valeur, des essais doivent être faits sur le spectre. t_{lim} constitue une donnée du code. En augmentant cette valeur, il est possible d'éliminer des pics moins intéressants, et ainsi de diminuer le temps d'exécution.

t_{lim} définit en fait le minimum détectable.

IV.6.2. Calcul des paramètres des pics retenus ; théorie générale :

Le traitement des pics utilise la méthode classique des moindres carrés non linéaires, comme dans la plupart des rapports étudiés. La fonction $\bar{y}_i$ est supposée représenter le spectre ; elle dépend de plusieurs paramètres p_k. La méthode consiste à trouver les valeurs des paramètres qui rendent minimale la somme des carrés des écarts entre la fonction $\bar{y}_i$ et les valeurs expérimentales y_i.

$$R^2 = \sum_i n_i \left[y_i - \bar{y}_i \, (p_k) \right]^2 \qquad (1)$$

Cette expression tient compte d'une pondération n_i associée aux données brutes.

Une condition nécessaire et suffisante pour que R^2 soit minimale est que la série des expressions :

$$\frac{dR^2}{dp_k} = 0$$

soient vérifiées.

La fonction $\bar{y}_i$ n'étant pas linéaire, nous linéarisons par rapport à chacun des paramètres par un développement en série de TAYLOR.

Les paramètres p_k s'écrivent : $p_k = p_k^o + \delta p_k$

p_k^o = valeurs initiales des paramètres,

Le processus consiste à corriger les paramètres initiaux par addition de petites variations δp_k.

$\bar{y}_i$ devient fonction des δp_k et non des paramètres p_k.

$$\bar{y}_i\ (p_k) = \bar{y}_i\ (p_k^o) + \sum_i \left(\frac{\partial \bar{y}_i}{\partial p_k}\right)_o \delta p_k \quad + \text{dérivées d'ordre supérieur à 1.}$$

Le développement est arrêté au premier ordre et rend $\bar{y}_i$ linéaire par rapport aux δp_k.

L'équation *(1)* devient :

$$R'^2 = \sum_i n_i \left[y_i - \bar{y}_i\ (p_k^o) - \sum_k \left(\frac{\partial \bar{y}_i}{\partial p_k}\right)_o \delta p_k \right]^2 \quad ; \quad \frac{dR'^2}{d(\delta p_k)} = 0$$

En dérivant R'^2 par rapport à chacun des p_k et en égalant à zéro, nous obtenons un système d'équations linéaires qui peut se mettre sous forme matricielle plus commode.

Soient les matrices colonnes : $(\Delta d) = (\delta p_1, \delta p_2, \delta p_3, \ldots)$

$$(B) = \left(\sum_i n_i\ (y_i - \bar{y}_i^o)\ \frac{\partial \bar{y}_i}{\partial p_1}\ ,\ \sum_i n_i\ (y_i - \bar{y}_i^o)\ \frac{\partial \bar{y}_i}{\partial p_2}\ ,\ \sum_i n_i\ (y_i - \bar{y}_i^o)\ \frac{\partial \bar{y}_i}{\partial p_3}\ ,\ \ldots\right)$$

Les coefficients des δp_i sont représentés par une matrice symétrique

$$C_{12} = \sum_i n_i \left(\frac{\partial \bar{y}_i}{\partial p_1}\right)\left(\frac{\partial \bar{y}_i}{\partial p_2}\right) \qquad \text{etc...}$$

$$(C)\ (\Delta p) = (B)$$

$$(\Delta p) = (C)^{-1}\ (B)$$

La solution est unique et est obtenue en faisant le produit de la matrice inverse de C par la matrice B :

$$p_k = p_k^o + \delta p_k$$

Les δp_k une fois connus, les p_k deviennent les nouvelles valeurs initiales, à entrer dans le système. Le processus est répété jusqu'à ce que les δp_k soient inférieurs à des valeurs Δ_k choisies comme critères de convergence. Le processus est arrêté lorsque $\delta p_k \leqslant \Delta_k$ pour tous les k simultanément.

IV.6.2.1. Application ; mise en équation des pics :

Pour revenir au cas qui nous intéresse, les paramètres indépendants à calculer sont :

- y_o la hauteur du pic au-dessus du bruit de fond ;
- x_o la position du sommet ;
- w_o la largeur à mi-hauteur.

Par hypothèse, le pic est considéré comme une gaussienne superposée à un bruit de fond linéaire. Autrement dit, le nombre de coups $\bar{y}_i$ dans le canal x_i est représenté par l'équation :

$$\bar{y}_i = y_o \, e^{-\left(\frac{x_i - x_o}{w_o/2\sqrt{\log 2}} \right)^2} + ax_i + b$$

$ax_i + b$ est le bruit de fond.

Dans un spectre complexe, les pics ne sont pas toujours isolés et peuvent se superposer pour donner des doublets. Il convient donc de considérer la superposition de plusieurs gaussiennes. Pour des raisons de programmation, nous avons trouvé commode l'indiciation des différents paramètres utilisée par BARNES, qui est la suivante :

$$\bar{y}_i = \sum_{\ell=1}^{k} p_{3\ell-2} \, e^{-\left(\frac{x_i - p_{3\ell}}{p_{3\ell-1}/2\sqrt{\log 2}} \right)^2} + p_{3k+1} \, x_i + p_{3k+2} \qquad (1)$$

où k est le nombre de gaussiennes.

IV.6.2.2. Test d'interférence entre pics :

Nous considérons que plusieurs pics interfèrent lorsque la distance entre leurs sommets estimés est inférieure à 2,5 fois la largeur à mi-hauteur FWHM (donnée d'entrée) en supposant bien sûr que la localisation des pics est bonne. Ce coefficient 2,5 est tout à fait arbitraire et a été défini empiriquement.

IV.6.2.3. Définition de la zone d'intérêt et du bruit de fond :

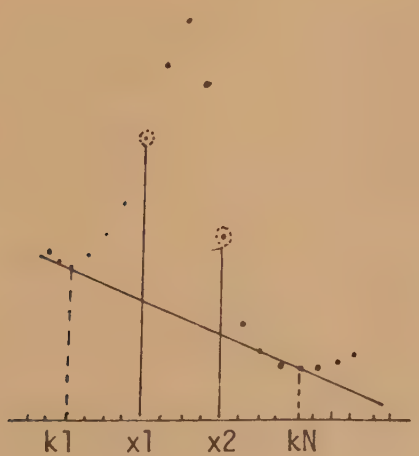
Nous ferons une différence entre les canaux définissant au mieux le pic et ceux considérés comme base du pic déterminant le bruit de fond. Deux cas sont possibles suivant que le pic est isolé ou que plusieurs interfèrent.

IV.6.2.4. Pic isolé :

k = 1 (k nombre de gaussiennes).

Les deux canaux délimitant les bases du pic, c'est-à-dire le bruit de fond, sont déterminés par le changement de signe de la dérivée première k1, kN. (Le calcul de la dérivée première le long du spectre a été présenté précédemment).

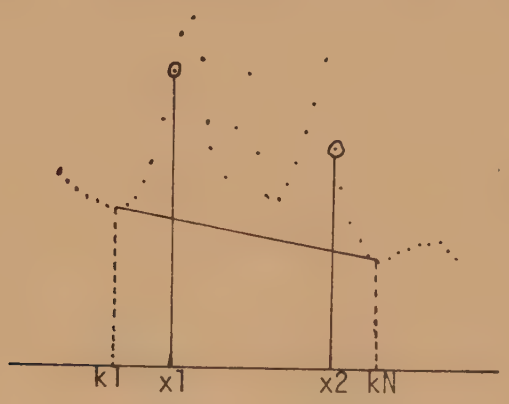
Les canaux retenus dans le processus de lissage par moindres carrés non linéaires sont comptés à partir du canal où la dérivée première est maximale (x_1) jusqu'au canal où elle est maximale (x_2). Ainsi leur nombre est proche de la largeur à mi-hauteur exprimée en canaux plus un.



Ceci permet en particulier d'éliminer le caractère dissymétrique des pics photoélectriques à leur base et de ne pas faire intervenir dans le lissage des canaux dont les contenus sont très entachés d'erreurs statistiques.

IV.6.2.5. Plusieurs pics interfèrent :
(k gaussiennes)

Nous rappelons que des pics interfèrent lorsque la distance entre deux sommets consécutifs est inférieure à 2,5 fois la largeur à mi-hauteur moyenne estimée.



Les k pics auront un bruit de fond commun, défini comme dans le cas d'un pic isolé par le changement de signe de la première dérivée. La base gauche sera relative au premier pic et la base droite relative au dernier pic.

Même processus en ce qui concerne les canaux retenus pour servir dans le lissage par moindres carrés non linéaires, c'est-à-dire les canaux définis à partir du flanc gauche du premier pic où la dérivée est maximale et du flanc droit du dernier pic considéré où la dérivée est minimale.

Si le calcul des différents paramètres n'est pas possible en considérant k pics, il est recommencé avec k - 1, en abandonnant le dernier pic, mais en conservant le même bruit de fond. On peut finalement par impossibilité numérique revenir à une analyse séparée des pics, tout en conservant le bruit de fond précédemment défini.

IV.6.2.6. Calcul de la surface du pic :

L'analyse du pic se termine par le calcul de sa surface. Nous considérons seulement l'aire de la gaussienne qui est fonction de sa largeur à mi-hauteur et de sa hauteur.

$$S = \sqrt{\frac{\pi}{\log 2}} \; \frac{p_{3\ell-2} \; p_{3\ell-1}}{2} \qquad \ell = 1,k$$

Variance de S

$$\sigma_S^2 = \left(\frac{\partial S}{\partial p_{3\ell-1}}\right)^2 \sigma^2 p_{3\ell-1} + 2\left(\frac{\partial S}{\partial p_{3\ell-1}}\right)\left(\frac{\partial S}{\partial p_{3\ell-1}}\right) \text{covar}\,(p_{3\ell-2}, p_{3\ell-1})$$

$$+ \left(\frac{\partial S}{\partial p_{3\ell-2}}\right)^2 \sigma^2 p_{3\ell-2}$$

IV.7. Résultats :

Les teneurs obtenues dans nos expériences sont présentées sous forme d'histogrammes. En coordonnées sont marquées les quantités d'élément analysé dans les échantillons, en µg/g de matière sèche ; chacune des valeurs inscrites représente une moyenne de trois dosages. Sous les numéros 1 à 53 sont répertoriés les différents échantillons analysés, comme suit :

1 - tabac français
2 - " américain
3 - " européen
4 - vigne 101 F
5 - vigne 109 F
6 - vigne 102
7 - raisin 100 R
8 - " 109 R
9 - salade
10 - poirier
11 - vigne
12 - pomme de terre
13 - cerisier
14 - foin
15 - pommier
16 - pomme
17 - vigne
18 - poirier
19 - raisin
20 - vigne
21 - pommier
22 - noyer
23 - vigne
24 - foin
25 - poirier
26 - foin
27 - cerisier
28 - vigne
29 - foin
30 - cerisier
31 - vigne
32 - noyer
33 - vigne
34 - vigne
35 - vigne
36 - poirier
37 - cerisier
38 - prunier
39 - pêcher
40 - pruneaux
41 - cognassier
42 - chou rouge
43 - chou ordinaire
44 - chou-fleur
45 - cerfeuil
46 - salade
47 - fane de carotte
48 - carotte
49 - pomme d'hiver
50 - pomme de septembre
51 - farine de boulanger
52 - " de luxe
53 - blé

IV.7.1. Analyse de quelques éléments dans les plantes :

IV.7.1.1. Cas du fer :

La reconnaissance de la présence du fer dans les plantes date du début du XVIIIe siècle. Depuis, on essaie d'étudier de plus en plus cet élément très important du métabolisme. Le fer se trouve dans les organismes vivants : il est à la base du groupement héminique ou hème. Il apparaît dans les chromo-protéines ferroporphyriques : hémoglobines, cruorines, myoglobines, cytochromes, peroxydases, catalases. Récemment, la présence de fer a été décelée dans deux enzymes flavo-protéiques : la DPNH-cytochrome réductase (MAHLER et ELOW /50/) et la xanthine-oxydase (RICHERT et WESTERFELD /56/).

SANDELL utilise la colorimétrie pour établir la généralité de présence du fer dans les milieux vivants. Sur le tableau XIX sont rassemblés quelques résultats analytiques (MAGUENNE, BERTRAND et NAKAMURA /37/) :

TABLEAU XIX : FER

(en mg p. 100 g de matière sèche)

Pomme de terre (tubercules) ...	7,8	Poire	1,7
Betterave fourragère (racine) :	35,2	Banane	2
Navet (racine)	16,1	Citron	4,4
Ail (bulbe)	2,9	Cerise	4,5
Oignons (bulbe)	0,7	Fraise	125
Carotte (racine)	5,1	Avoine (grains)	1,8
" (feuilles)	25	Blé	3,3
Chou (feuilles blanches et v.)	2,7-7,1	Pois	4,5
Radis (racine)	2,3	Haricot	5-15
" (feuilles)	46,3	Asperge (turion)	5,2
Luzerne	4,4	Champignon de couche	15,3
Pissenlit	5,8	FER DANS LE MARRONNIER :	
Oseille	11,7	Bois jeune	2,9
Laitue	20	Ecorce	11,6
Epinard	30-130	Bourgeon	13,9
Chou-fleur (inflorescence)	3,8	Bourgeon éclos	4,3
Pomme	0,5	Feuille (limbe)	15,9
Prune	0,9	" (pétiole)	5
Raisin	1,2	Fleur	10,2

Nos résultats d'analyse du fer sont présentés sur la figure 15. Il semble que la plupart des végétaux analysés contiennent entre 100 et 200 µg de fer par g de matière sèche, pour arriver dans certaines plantes, comme le cerfeuil, la salade et les fanes de carottes, jusqu'à 3000 µg/g. Les résultats obtenus coïncident bien avec cette notion de base, comme le montre le tableau XIX, l'intérêt pour nous étant constitué par les variations de teneurs.

Les teneurs en fer, dans nos analyses, ont été calculées à partir du ^{59}Fe en photopic 1098,6 keV.

IV.7.1.2. Cas du zinc :

Il a été observé, il y a longtemps, que certaines plantes ne poussaient bien que dans des terrains riches en zinc ; avec le développement des méthodes chimiques, a été d'abord mise en évidence la présence de zinc dans les plantes, puis a été approfondi son rôle physiologique. Pour donner une idée des données bibliographiques, nous citons quelques résultats obtenus par JAVILLIER JAVILLIER /37/ sur les plantes originaires de terrains variés, et par BERTRAND et BENZON /6/ dans quelques plantes alimentaires :

TABLEAU XX : ZINC

(en mg p. 100 g de matière sèche)

Abies pectinata (tige jeune) ...	2,3	*Sambucus nigra* (rameaux + feuilles et fruit)	1,5
" " (feuilles)	3,3	*Polygonum fagopyrum* (fruits) ..	0,2
Pinus strobus (feuilles)	3	*Cannibis sativa* (graines)	4,3
Larix europoea "	4,7	*Sinapis alba* "	2,2
Quercus robur "	1,7	*Lens esculenta* "	9,5
Ficus carica "	1,4	*Digitalis purpurea* "	5,3
Olea europoea "	1,2	*Polystichum filix mas*	6
Fraxinus ornus "	0,4	*Laminaria saccharina*	1
Vitis vinifera (tige)	3,7	*Fucus vesiculosus*	1,9
Juniperus communis	2,9	*Psalliota campestris*	10,2
Alnus glutinosa (rameaux)	0,2	*Polyphorus officinalis*	2,1
Betula alba (écorce)	13,5		

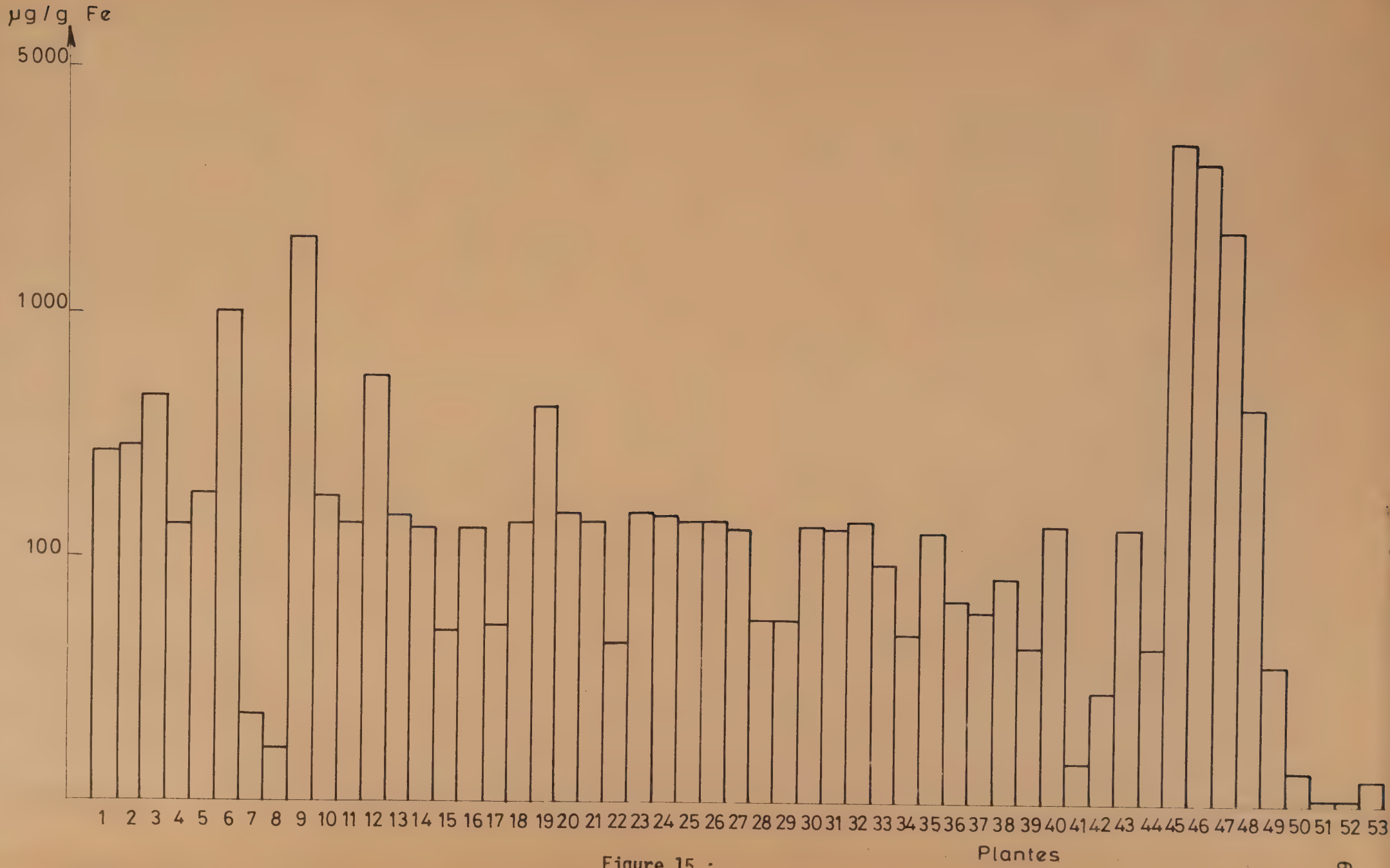


Figure 15 :
Teneur de Fe en µg/g de matière séche dans plusieurs plantes prélevées sur différents terrains

TABLEAU XXI : TENEUR EN ZINC DE QUELQUES PLANTES ALIMENTAIRES (d'après BERTRAND et BONZON /67/

Epinard (feuilles)	12	Haricot (graines)	5,6
Chicorée verte	2,2	Raisin blanc entier	1,3
Pissenlit	10,1	Abricot (chair)	0,3
Romaine	4,2	Pomme "	0,3
Cresson	8,3	Orange "	1,2
Pomme de terre (tubercules)	1,3	Ail (bulbe)	3,2
Navet (racine)	1,8	Oignon (bulbe)	10

C'est au cours d'études toxicologiques que le zinc est apparu comme un élément habituel de la matière vivante /67/. Il est connu maintenant pour être présent dans plusieurs métalloprotéines et enzymes (BOWEN /117/) : les zyncoenzymes.

TABLEAU XXII : PROTEINES ET ENZYMES CONTENANT DU ZINC

Nom	Origine	Poids molécul.
Carboxypeptidase		29 000
Carbonic anhydrase A		30 000
Carbonic anhydrase B		27 800
Alcool déhydrogenase	Foie	73 000
DNA polymérase	*Escherichia coli*	109 000
DNA polymérase	*Strongylocentrotus*	150 000
Phosphatase alcaline		89 000
Leucine aminopeptidase		300 000
Peptitase	rein	90 000
Cytocupréine	Cellules de mammifères	33 600
Transcarboxylase		670 000

Nos résultats de la figure n° 16 montrent que, pour plusieurs plantes, la teneur en zinc est élevée (entre 20 et 30 µg par g de matière sèche). Les teneurs en zinc ont été calculées à partir du ^{65}Zn sur énergie de 1115 keV.

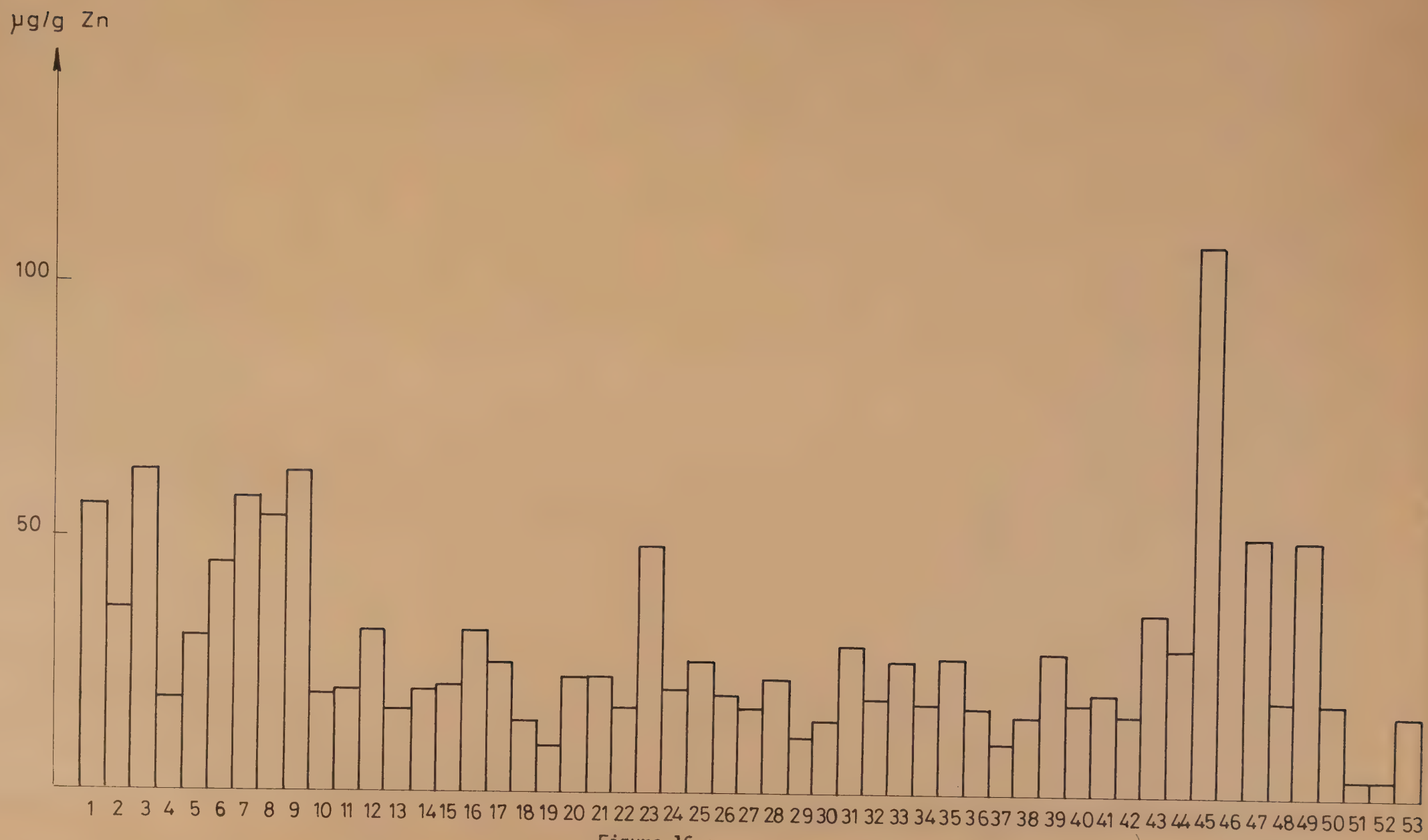


Figure 16 :

Teneur de Zn en µg/g de matière séche dans plusieurs plantes prélevées sur différents terrains

IV.7.1.3. Cas du cobalt :

C'est un fait connu que le cobalt est un constituant normal des animaux et des végétaux, mais à des concentrations extrêmement faibles. Le tableau XXIII montre des résultats obtenus par BERTRAND et MACHEBOEUF /7/ :

TABLEAU XXIII : COBALT
(en µg p. 100 g de matière sèche)

Végétaux	Cobalt
Oignon (bulbe)	13
Carotte (racine)	3
Pomme de terre (tubercule)	6
Epinard (feuilles)	78
Laitue "	5
Tomate (fruit)	9
Lentille (graine)	35
Pois "	2,8
Blé (grain)	0,9
Avoine "	?
Riz (poli)	0,56
Chanterelle	210

Sur le plan physiologique, le rôle du cobalt n'est pas encore bien connu, mais on peut remarquer que la vitamine B_{12}, découverte dans le foie, est un composé cobaltique, très bien étudié actuellement sur le plan biochimique. Même si le rôle de la vitamine B_{12} n'est pas évident dans les végétaux, le cobalt est néanmoins fourni aux animaux par les plantes.

D'autre part, l'étude de l'accumulation du cobalt par les plantes présente un intérêt, parce que ce métal peut être un produit radioactif d'une explosion atomique.

Les résultats obtenus par nos dosages montrent que les plantes accumulent le cobalt dans une gamme comprise entre 0,05 et 0,5 g par g de matière sèche (figure 17). Le cobalt a été analysé à partir de la surface du pic de ^{60}Co sur énergie de 1332 keV.

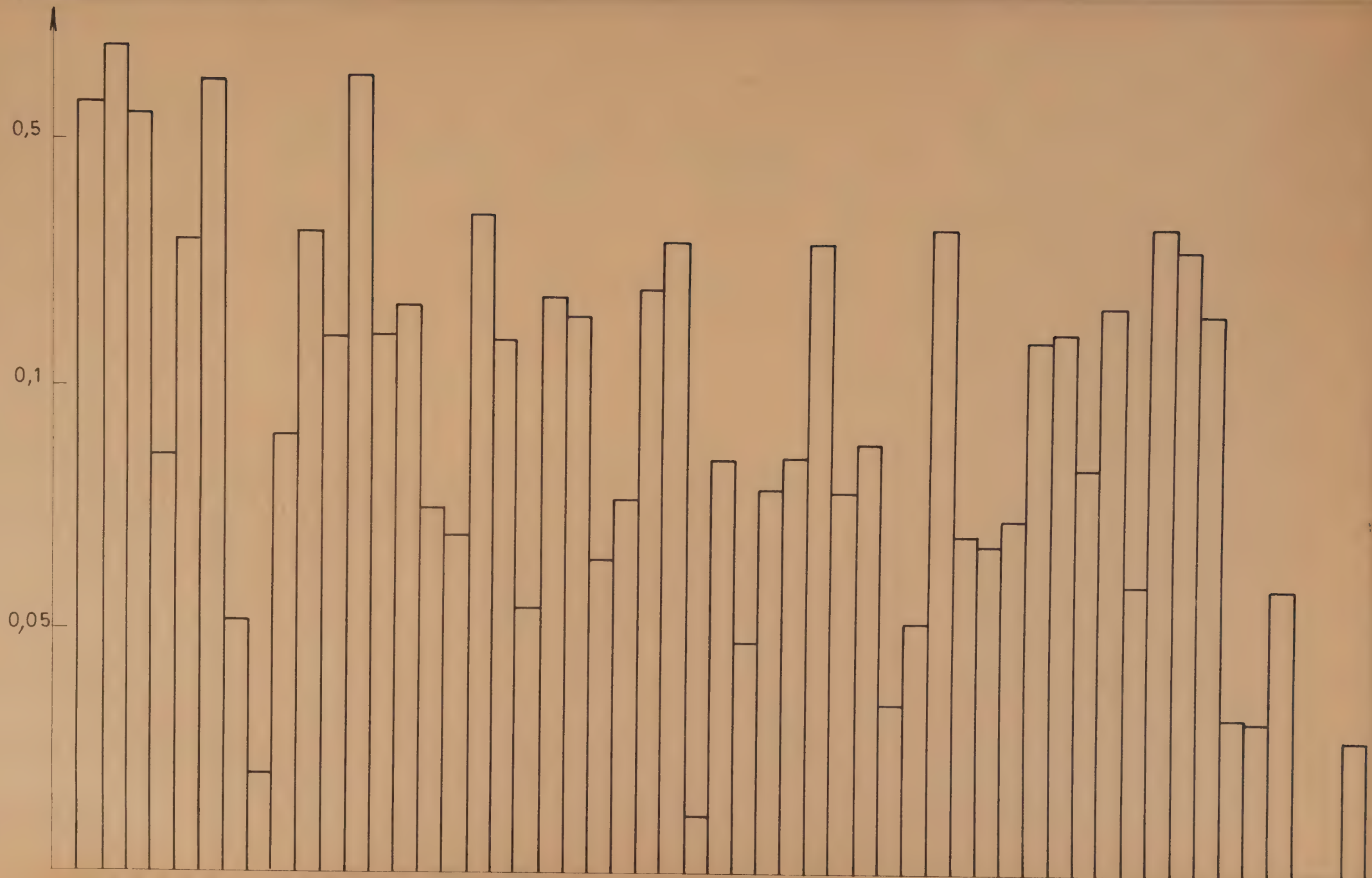


Figure 17 :

Teneur de Co en µg/g de matière séche dans plusieurs plantes prélevéessur différents terrains

IV.7.1.4. Cas du rubidium :

Peu après la découverte du rubidium par BUNSEN et KIRCHKOFF, à l'aide de l'analyse spectrale, GRANDEAU reconnut, par la même voie, l'existence de cet élément dans les cendres de betterave, de tavac, de café, de thé, etc. A la suite de plusieurs travaux de ce genre, le rubidium est considéré comme un constituant régulier, constant, de la matière vivante :

TABLEAU XXIV : RUBIDIUM

(en mg p. 100 g de matière sèche)

Cryptogames :		*Tricholoma album*	280
Prêle	5,56	*Cortinarius violaceus*	151
Fougère des bois	6,19	**Phanérogames :**	
Capillaire	2,91	Renonculacées	1,78
Sphagnum papillorum	1,18	Crucifères	2,34
Lichen des rennes	0,24	Légumineuses	1,65
Fucus	1,84	Ombellifères	1,88
Peziza aurantia	0,48	Solanées	2,79
Champignons :		Labiées	1,10
Bolet	1	Salsolacées	3,76
Russula cyanoxantha	20,4	Graminées	1,25
Lactarius deliciosus	16,9	**Organes du lis :**	
Clitocybe nebularis	21,1	Tige	1,97
Scleroderma aurantiacus	11,5	Feuilles	0,21
Chanterelle	23,2	Périanthe	2,85
Champignon de couche	4,27	Anthères	7,1
Amanita phalloïdes	11,7	Pollen	6,9
		Ovaire	2,76

Nos analyses montrent que la plupart des plantes analysées contiennent entre 5 et 10 µg/g, mais, dans certains cas, la teneur atteint 40 à 45 µg/g de matière sèche (figure 18), ce qui correspond bien aux résultats obtenus par d'autres auteurs (tableau XXIV).

Le rubidium a été dosé à partir du radioisotope de ^{86}Rb, de photopic 1076,6 keV.

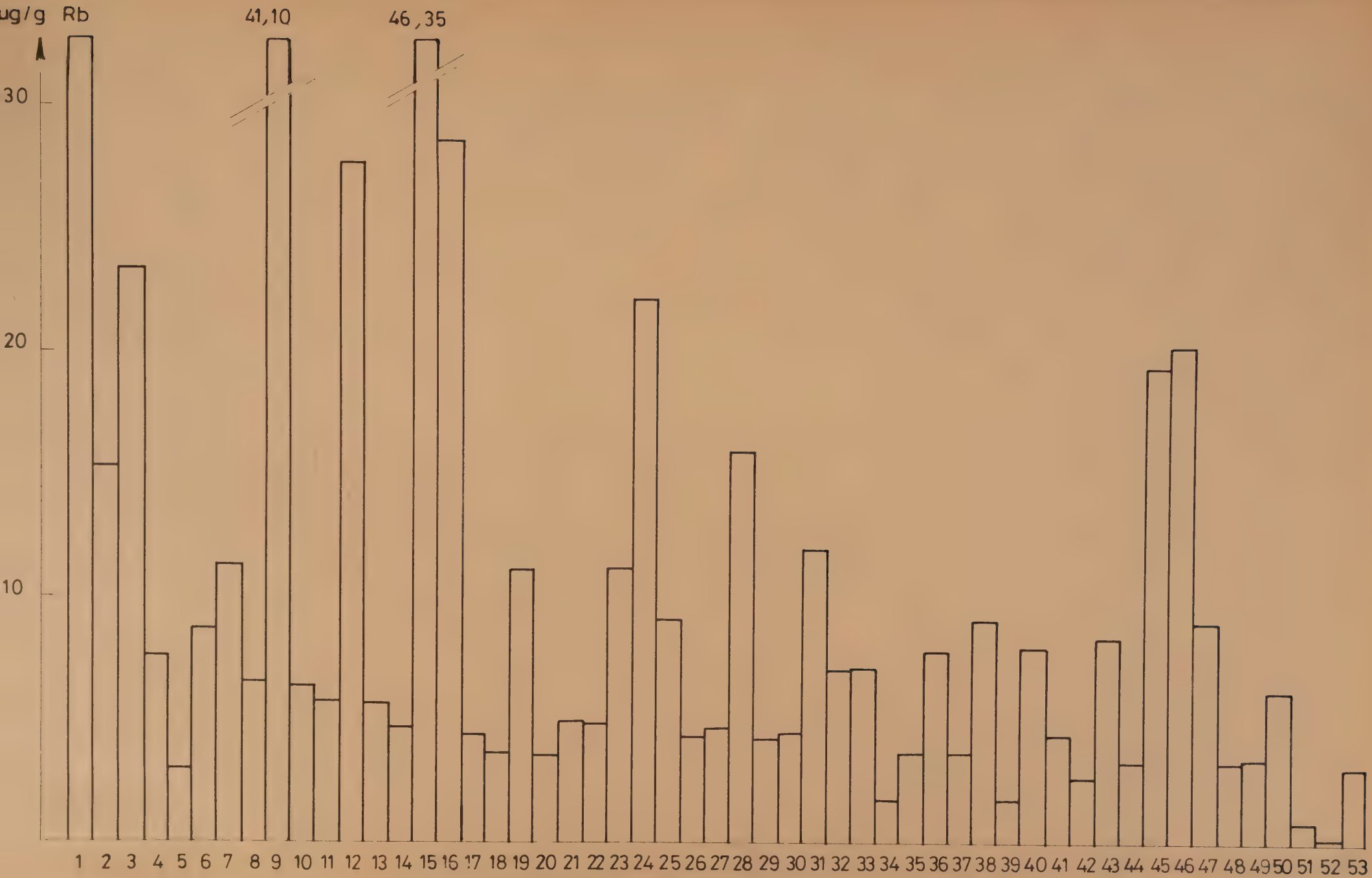


Figure 18 :

Teneur de Rb en µg/g de matière sèche dans plusieurs plantes prélevées sur différents terrains

IV.7.1.5. Cas du césium :

La présence de césium dans les plantes avait été signalée en même temps que celle du rubidium ; maintenant, il est considéré comme un constituant des organismes vivants. Le tableau XXV montre les résultats obtenus par BERTRAND et BERTRAND /8, 9/ :

TABLEAU XXV : CESIUM

(en mg pour 100 g de matière sèche)

Chez les végétaux		Chez les animaux	
Champignons :		Invertébrés :	
Paxillus involutus :		Coques	16,5
Base du pied	1,72	Gryphée	75
3/4 sup. du pied	8,9	Oursin	29,2
Chapeau	0,8	Moules	7,9
Hyménium	0,9	Coquille Saint-Jacques	5,4
Phanérogames :		Calmar	6,7
		Scorpion	3
Berce	2,44	Ver de terre	1,6
Petit liseron	0,8	Abeille	2,7
Compagnon rouge	2,69	Vertébrés :	
Héliotrope	1,88	Rouget grondin (muscle)	3,95
Spirée du Japon	0,34	Dorade (muscle)	2,95
Scarole	3,49	Thon "	0,17
Radis	6,36	Crapaud	4,3
Petite centaurée	0,38	Tortue d'eau douce (muscle)	2,1
Gentiane	4,3	Coq (muscle cuisse)	0,8
		pigeon (muscle pectoral	0,86
		Lapin (muscle)	5,7
		" (rein)	15,6
		" (foie)	1,25
		" (id.)	2,7

Nos propres études montrent la présence du césium en quantité faible (de 0,01 à 0,04 µg/g) qui peut s'élever pour certaines plantes jusqu'à 0,388 µg/g (figure 19).

L'accumulation du césium est intéressante au point de vue radioécologie Nous avons dosé le césium par le ^{134}Cs, énergie de pic 795,8 keV, période 2,08 ans.

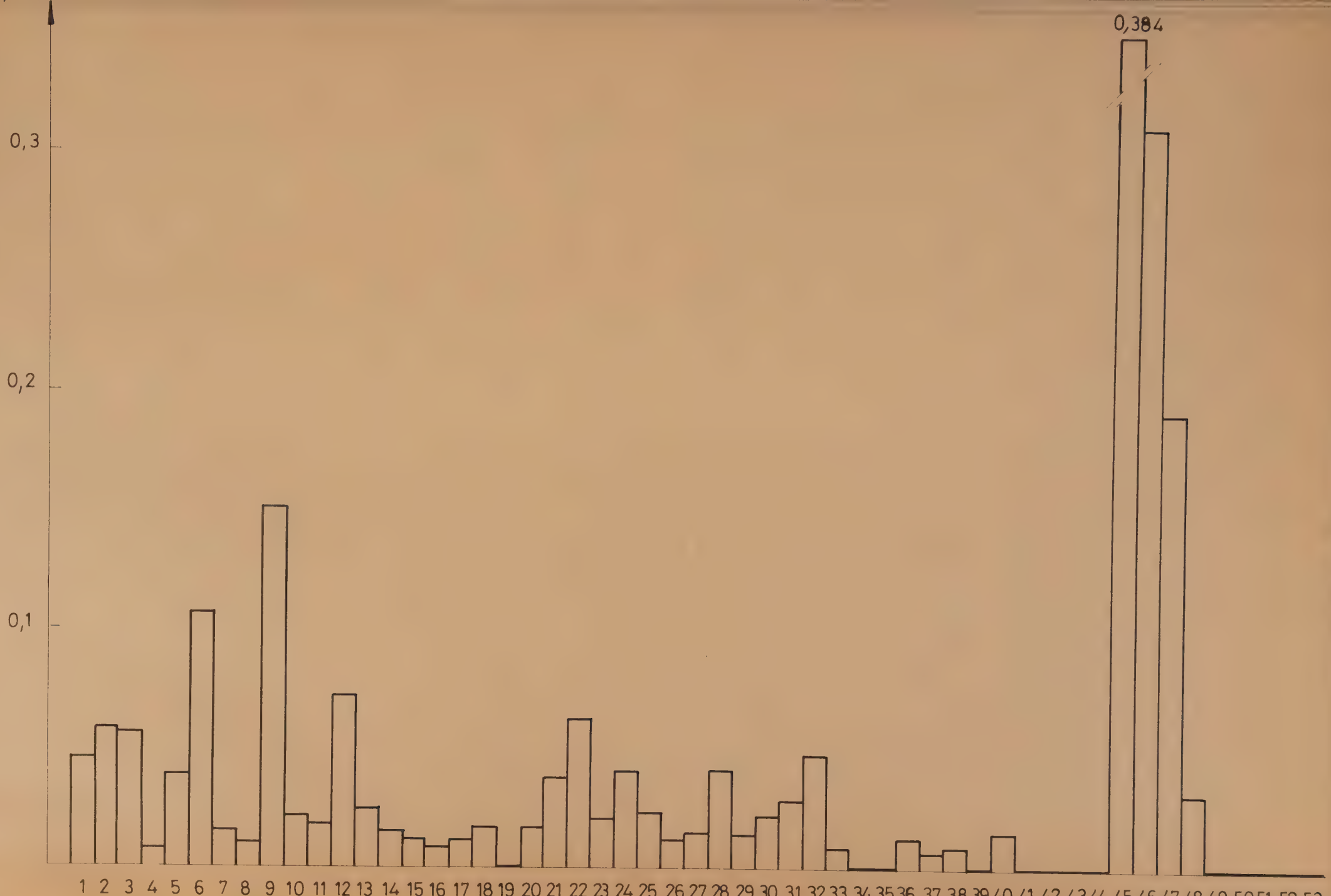


Fig.19: Teneur de Cs en µg/g de matière séche dans plusieurs plantes prélevées sur différents terrains

IV.7.1.6. Cas du chrome :

L'existence du chrome dans le monde organisé a été reconnue à la suite d'assez nombreux travaux. Un travail de L. de SAINT-RAT /57/ fournit des données quantitatives précises en ce qui concerne les végétaux (tableau XXVI) :

TABLEAU XXVI : LE CHROME CHEZ LES VEGETAUX
(en mg pour 100 g de matière sèche)

Oignon (bulbe)	0,0127	Pomme (péricarpe charnu)	0,030
Carotte (racine)	0,068	Pomme (pelure)	0,085
Radis "	0,107	Blé (grain entier)	0,0042
" (feuilles)	0,117	Maïs (graine)	0,0043
Epinard (feuilles)	0,0325	Haricot (graine)	0,014
Cresson (tiges et feuilles)	1,269	Levure de boulangerie . .	-
Laitue	0,060	Champignon de couche . . .	0,135
Tabac (feuilles)	0,108	Cèpe	0,058
Pomme de terre (tubercule)	0,0002		
Tomate (fruit entier) . . .	0,0125		

Le chrome apparaît en quantité appréciable dans les milieux naturels, sols et eaux. De ses deux formes, CrIII et Cr VI, cette dernière est de loin la plus toxique, donc la plus dangereuse.

Sur la figure 20 sont soumis les résultats de nos dosages. Dans la plupart des échantillons analysés, nous avons trouvé environ 0,2 à 0,5 µg/g, et, chez certains végétaux, jusqu'à 1,5-1,9 µg/g.

Le chrome a été analysé sur pic du ^{51}Cr, énergie 320,1 keV, période de décroissance : 27,75 j.

IV.7.1.7. Cas du baryum, de l'europium, du scandium et du strontium :

Pour ces quatre éléments, nos résultats montrent qualitativement l'existence du baryum dans presque tous nos échantillons ; dans le cas du tabac, celle-ci est élevée (jusqu'à 185 µg/g) (figure 21). Il faut dire que le processus de fermentation du tabac conduit à une concentration de la matière sèche, donc de la teneur relative des cendres.

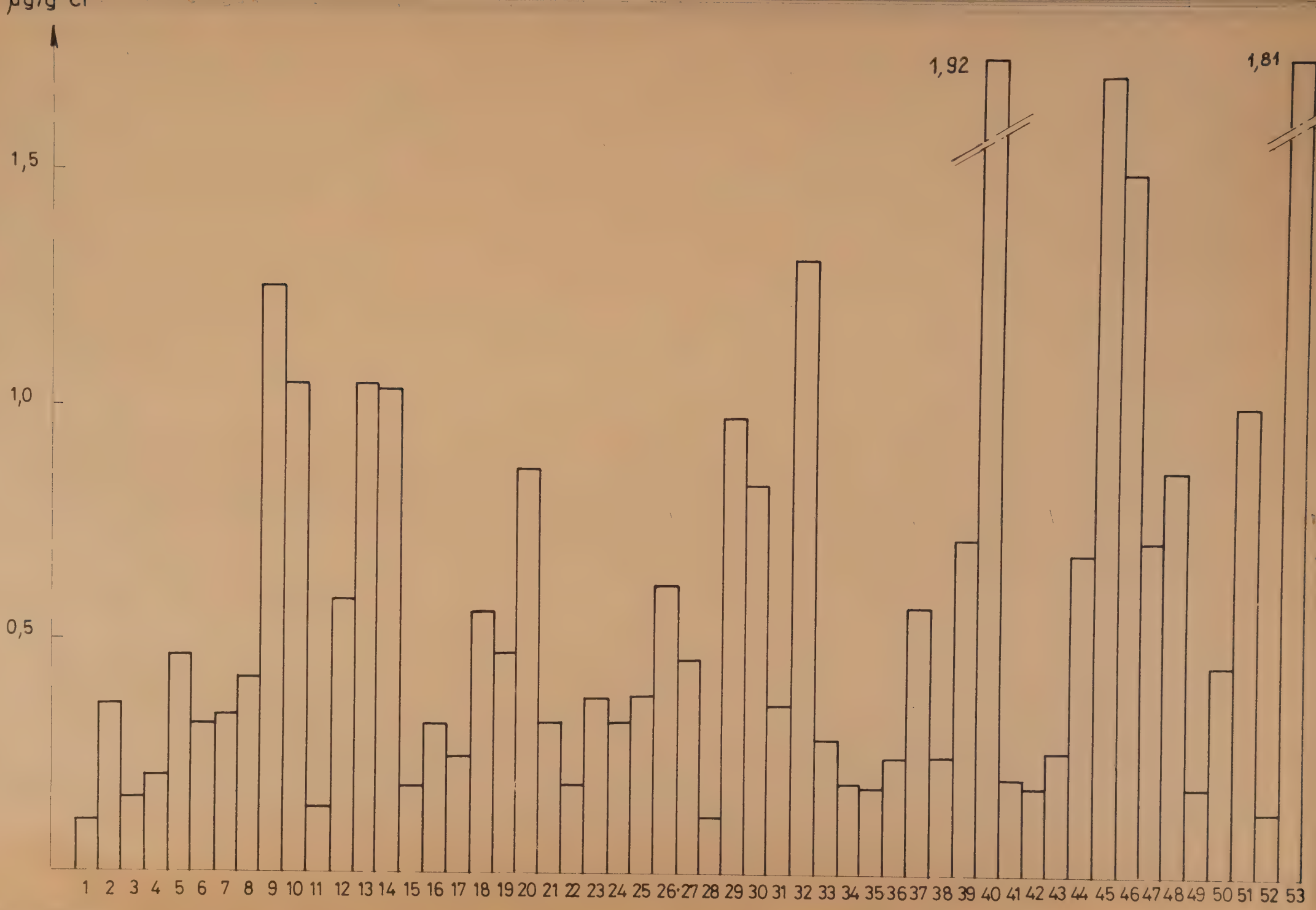


Fig.20: Teneur Cr en µg/g de matière sèche dans plusieurs plantes prélevées sur différents terrains

Fig.21: Teneur de Ba en µg/g de matière séche dans plusieurs plantes prélevées sur différents terrains

Les résultats obtenus pour le baryum (figure 21), l'europium (figure 22, le scandium et le strontium (tableau XXVII) montrent que ces éléments se rencontrent dans nos échantillons de façon très variable et parfois au-dessous du seuil de détection. Ces variations sont d'autant plus intéressantes que l'absorption et l'accumulation de ces éléments est moins directement conditionnée par le métabolisme de la plante que ne le sont celles des oligoéléments.

Il faut bien préciser que ces résultats sont obtenus pour les conditions d'activation choisies par nous et que nous n'avons pas le droit d'en déduire que ces éléments manquent dans la composition minérale des végétaux analysés : il suffirait de changer les conditions d'analyse en cas de besoin.

Les calculs ont été faits sur l'activité de ^{131}Ba, ^{152}Eu, ^{46}Sc et ^{85}Sr, qui ont respectivement :

^{131}Ba : énergie : 496 keV, période 12 jours ;
^{152}Eu : " 344 " " 12,7 ans ;
^{46}Sc : " 889 " " 84 jours ;
^{85}Sr : " 514 " " 64,7 jours.

(voir tableau XXVII, page 77)

Figure 22 :

Teneur de Eu en µg/g de matière sèche dans plusieurs plantes prélevées sur différents terrains

TABLEAU XXVII : TENEUR DE QUELQUES PLANTES EN SCANDIUM ET STRONTIUM (µg/g de matière sèche)

n° échant.	Scandium	Strontium	n° échant.	Scandium	Strontium
1	0,09277	1,16	28	0,005597	0,3675
2	0,1190	0,42	29	0,008541	0,3808
3	0,2007	0,927	30	0,02161	trace
4	0,0005323	0,474	31	0,01643	0,7788
5	0,06036	0,7717	32	0,02339	1,509
6	0,002896	0,454	33	0,005529	2,167
7	0,004930	trace	34	0,003858	3,219
8	0,006078	0,0847	35	0,001236	1,779
9	0,3441	0,3294	36	0,005595	1,924
10	0,03794	0,3404	37	0,006204	2,412
11	0,01341	0,2204	38	0,008961	1,145
12	0,1236	0,5703	39	0,003718	2,342
13	0,0943	0,2308	40	0,01844	1,731
14	0,009935	0,1655	41	0,007915	2,987
15	0,001636	0,048	42	0,002301	3,050
16	0,007499	0,2636	43	0,006106	5,404
17	0,004216	0,0835	44	0,002169	5,644
18	0,02259	0,1388	45	0,9389	1,27
19	0,007064	trace	46	0,7843	0,83
20	0,02409	0,1363	47	0,4769	0,62
21	0,02312	0,8063	48	0,07609	0,092
22	0,08113	0,4038	49	0,003198	trace
23	0,01574	0,4351	50	0,001719	trace
24	0,02504	0,2887	51	0,001521	trace
25	0,01034	0,5755	52	0,004158	trace
26	0,01903	0,9647	53	0,007155	trace
27	0,01177	0,7497			

IV.7.2. L'accumulation de quelques éléments par différentes plantes poussant simultanément sur des sites donnés :

Etant donné que nos prélèvements ont été effectués dans différents sites, nous avons pensé à regarder s'il existe une concordance dans l'accumulation des mêmes éléments par les différentes espèces végétales qui poussent sur le même sol. Les teneurs obtenues pour les dix éléments analysés ont été regroupées pour les végétaux qui poussent :

- dans la région de Villargondran (figure 23 A et B) ;
- " " des Abymes (figure 24 A, B et C) ;
- " " de Pontamafrey (figure 25) ;
- " " de Villaron (figure 26) ;
- " " de St-Jean-de-Maurienne (figure 27) ;
- " " de St-Etienne-de-Cuines (figure 28).

Le fait que toutes les plantes poussent au même endroit, où la composition minérale est supposée constante, n'entraîne pas, ipso facto, une composition identique des différentes espèces végétales croissant en ce lieu. En effet, les résultats montrent que tous ces végétaux accumulent différentes quantités des éléments étudiés.

IV.7.3. Y a-t-il dépendance entre l'accumulation de quelques éléments par les plantes de même espèce, mais prélevées dans des sites différents ?

Nous avons également pensé qu'il serait intéressant de présenter les résultats obtenus sous forme d'une dépendance de l'accumulation minérale vis-à-vis du site pour une espèce donnée. Les résultats sont présentés, pour les diverses plantes,

- chou . . . . . Figure 29
- pomme (feuille, fruits) . . . " 30
- arbres fruitiers . . . . . " 31
- noyer . . . . . " 32
- tabac . . . . . " 33
- cerisier . . . . . " 34

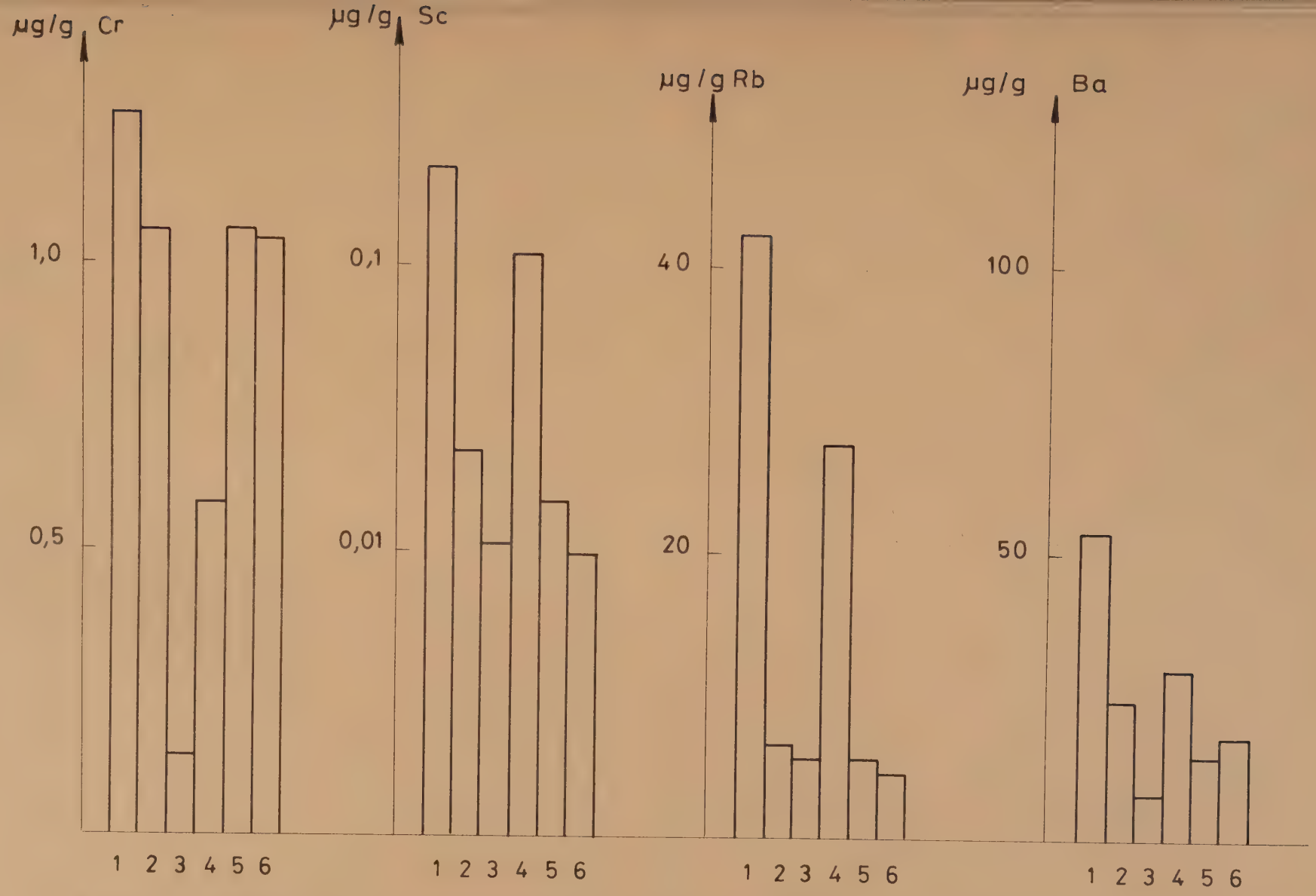
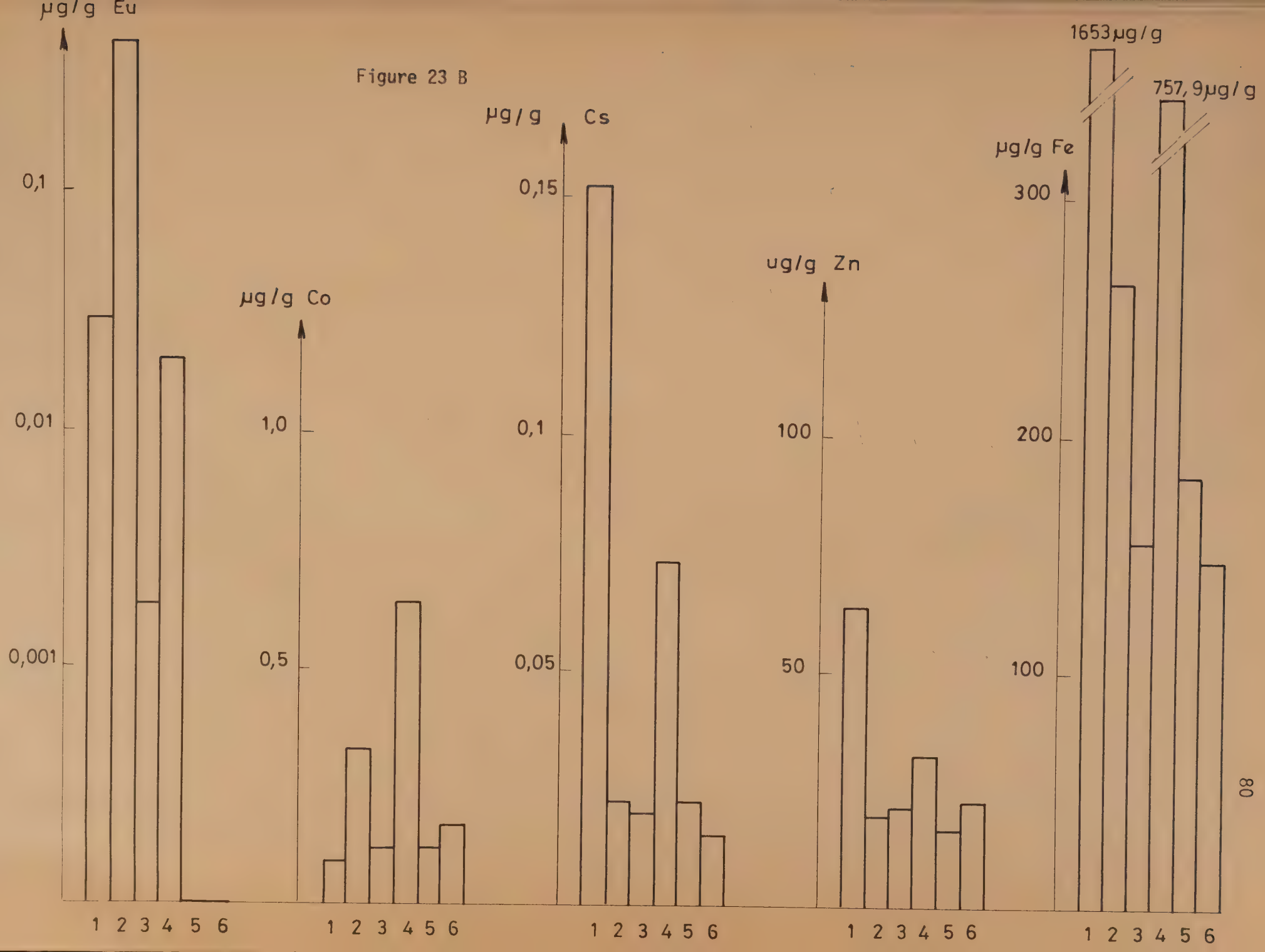


Figure 23 A : Teneur des éléments Eu, Co, Cs, Zn, Fe, Cr, Sc, Rb, Ba, dans les végétaux de la région Villargondran en µg/g de matière séche

1 _ Salade
2 _ Poirier
3 _ Vigne
4 _ Pomme de terre
5 _ Cerisier
6 _ Foin

Figure 23 B


µg/g Eu
0,1
0,01
0,001
1 2 3 4 5 6
µg/g Co
1,0
0,5
1 2 3 4 5 6
µg/g Cs
0,15
0,1
0,05
1 2 3 4 5 6
ug/g Zn
100
50
1 2 3 4 5 6
µg/g Fe
1653µg/g
757,9µg/g
300
200
100
1 2 3 4 5 6
80

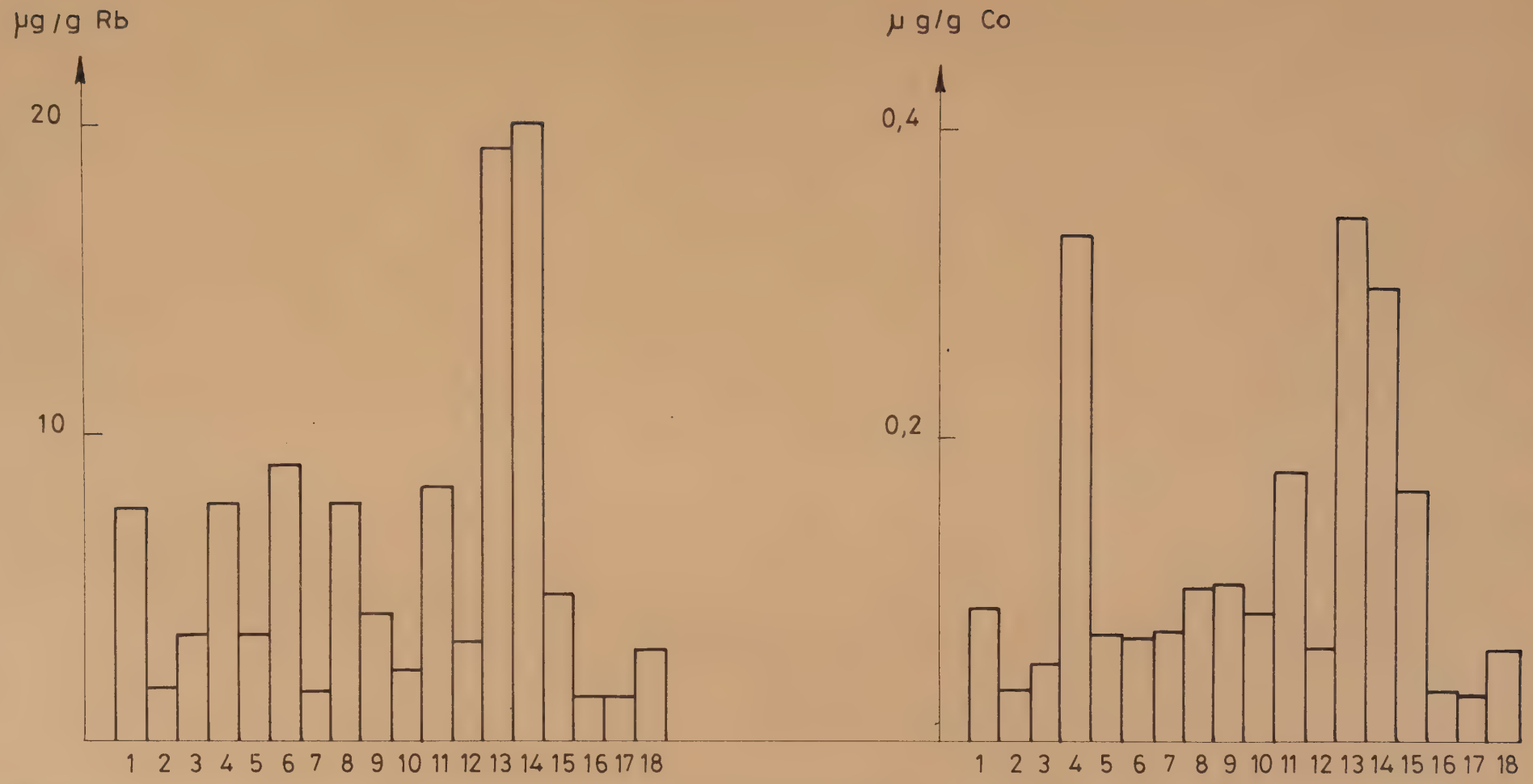


Fig. 24 A: Teneur des éléments Co, Rb, Zn, Sc, Fe, Cr, dans les plantes de la région des Abymes

1 - Vigne
2 - Vigne
3 - Vigne
4 - Poirier
5 - Cerisier
6 - Prunier
7 - Pêcher
8 - Pruneaux
9 - Cognassier
10 - Chou rouge
11 - Chou ordinaire
12 - Chou-fleur
13 - Cerfeuil
14 - Salade
15 - Carotte feuille
16 - Carotte racine
17 - Pomme d'hiver
18 - Pomme de Septembre

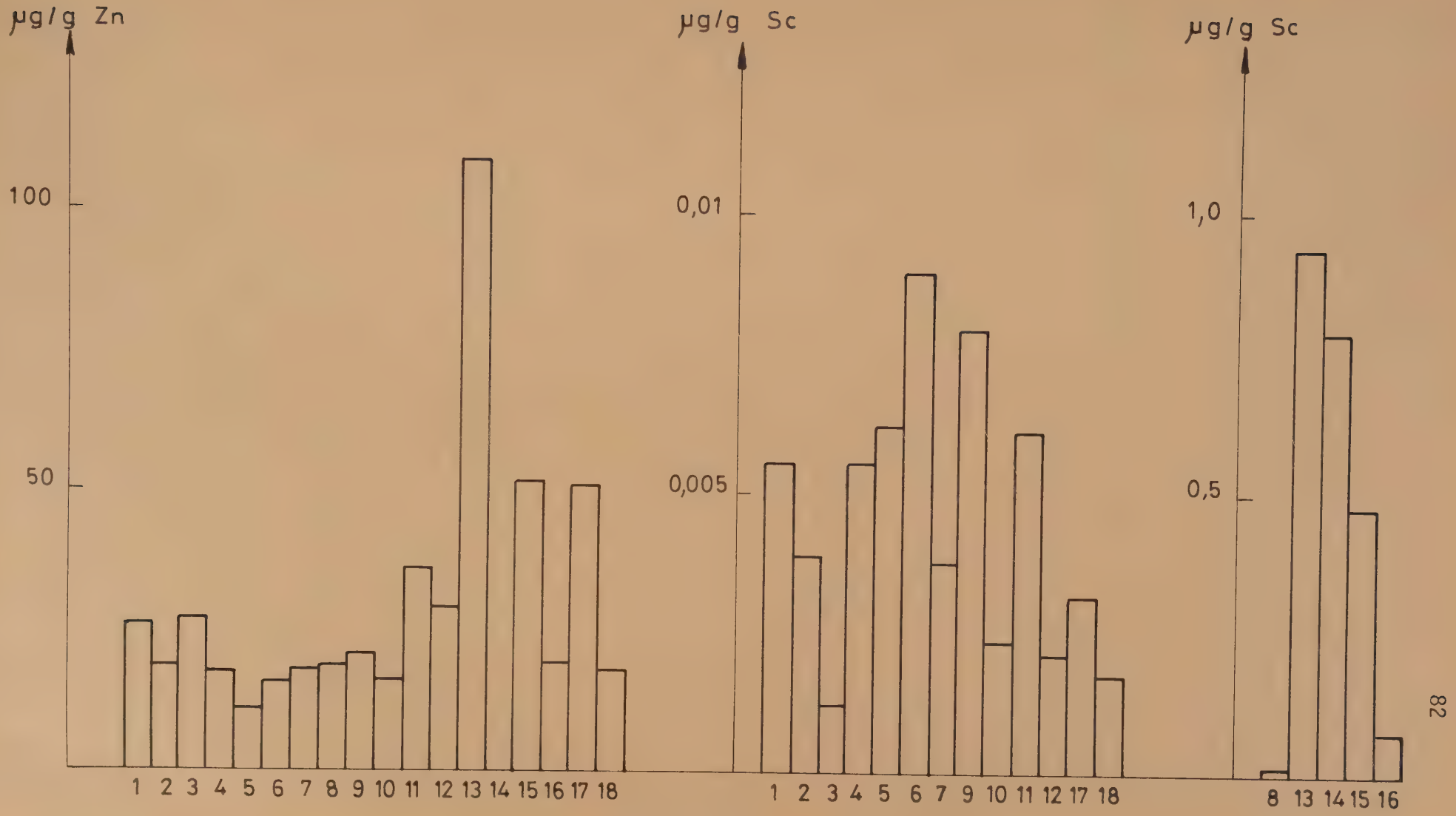

µg/g Zn
100
50
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
µg/g Sc
0,01
0,005
1 2 3 4 5 6 7 9 10 11 12 17 18
µg/g Sc
1,0
0,5
8 13 14 15 16
Plantes

Figure 24 B

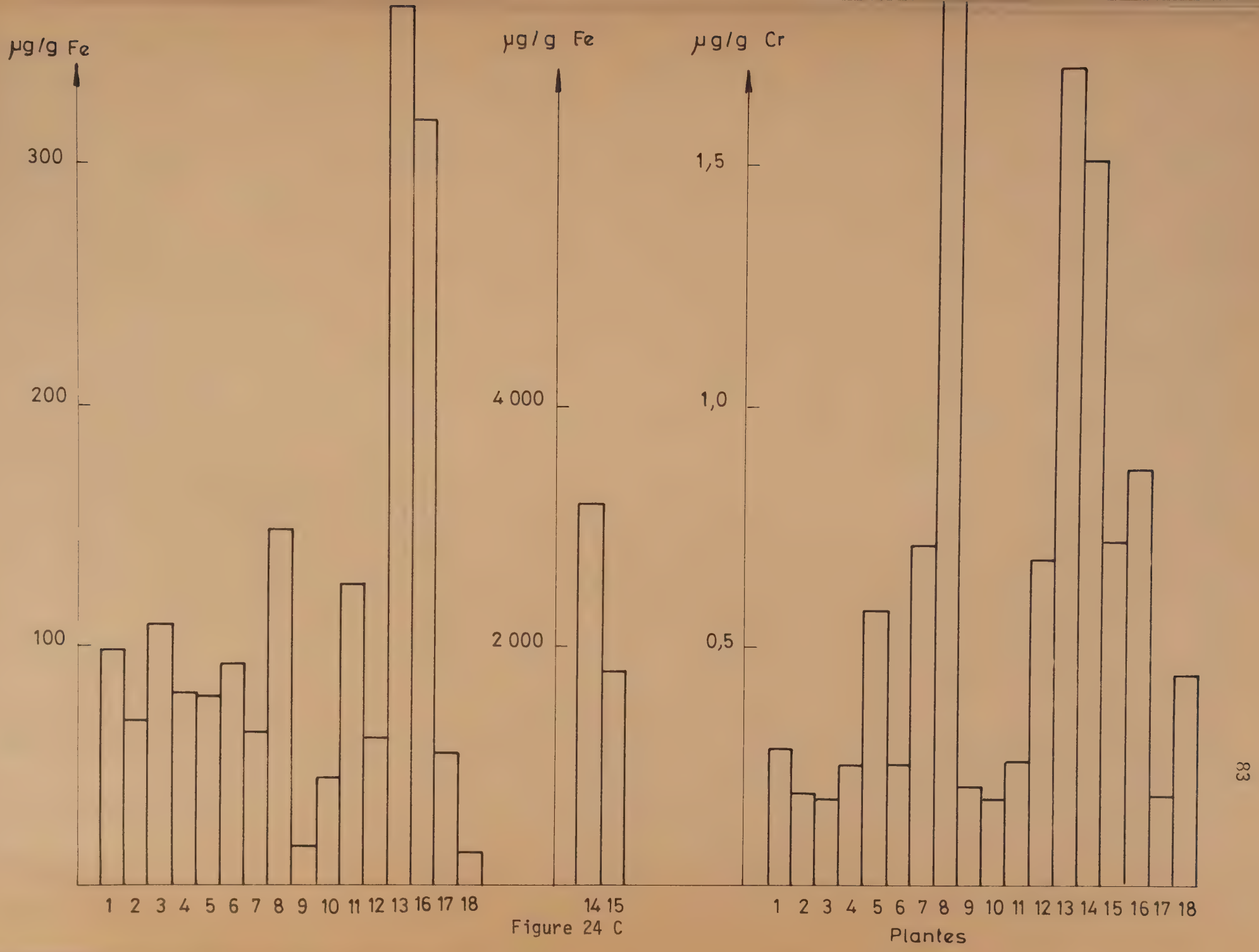

µg/g Fe
300
200
100
µg/g Fe
4 000
2 000
µg/g Cr
1,5
1,0
0,5
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 16 17 18
14 15
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
Plantes

Figure 24 C

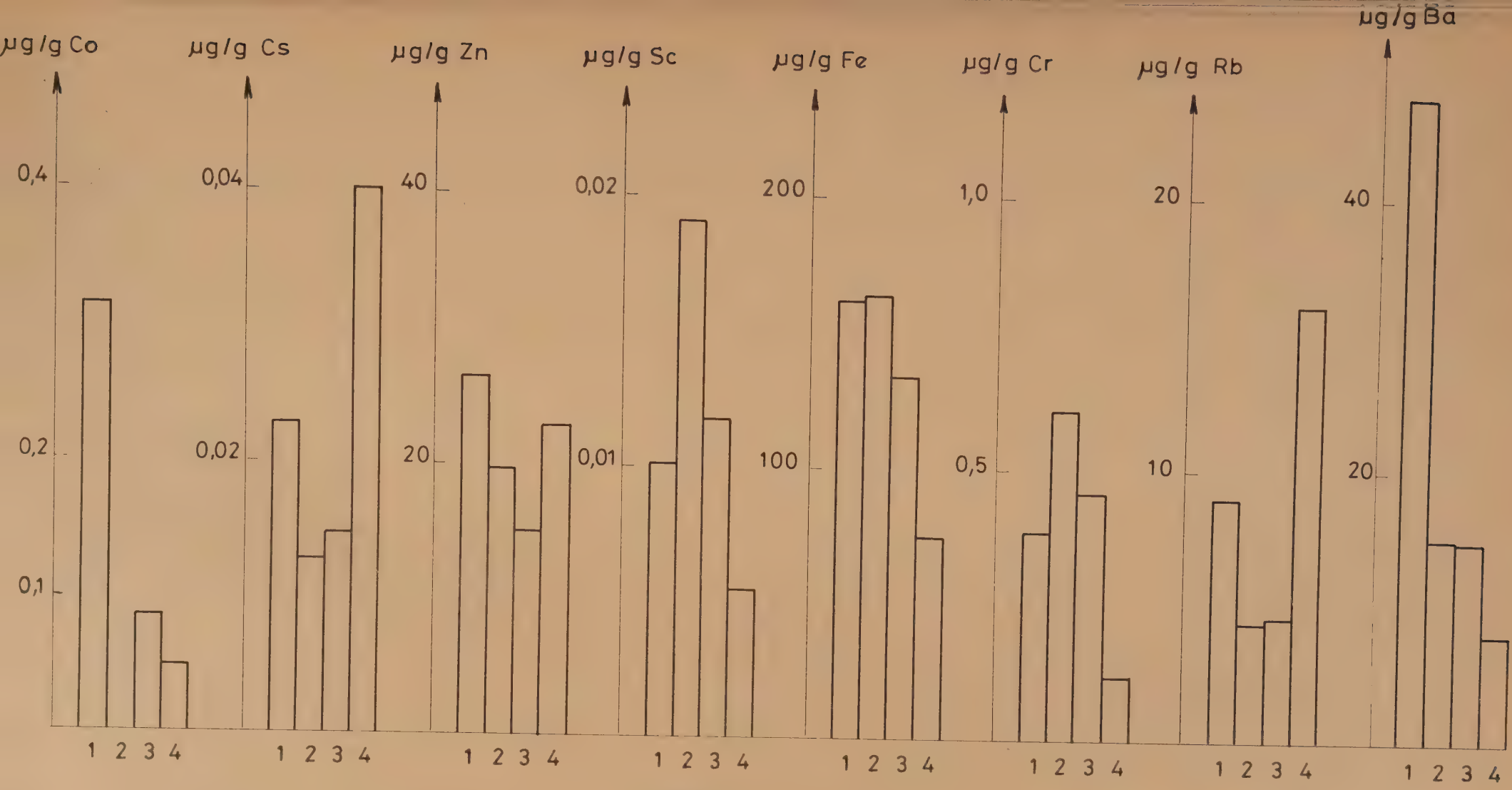


Figure 25 :

Teneur des éléments Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les plantes de la région de Pontamafrey en ug/g de matière séche

1 - Poirier 3 - Cerisier

2 - Foin 4 - Vigne

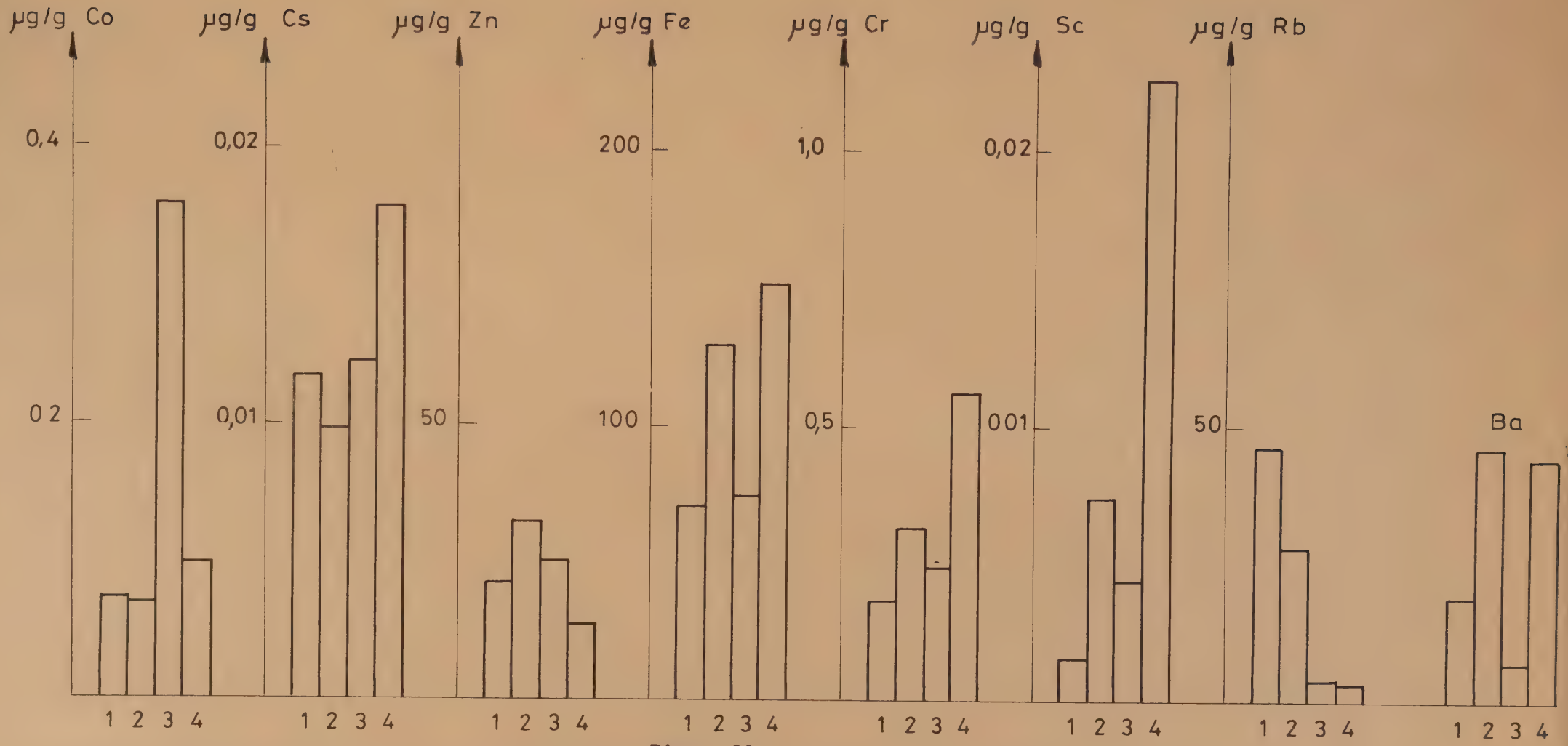


Figure 26 :
Teneur des éléments Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les végétaux de la région Le Villaron en µg/g de matière sèche

1 _ Pommier 3 _ Vigne
2 _ Pomme 4 _ Poirier

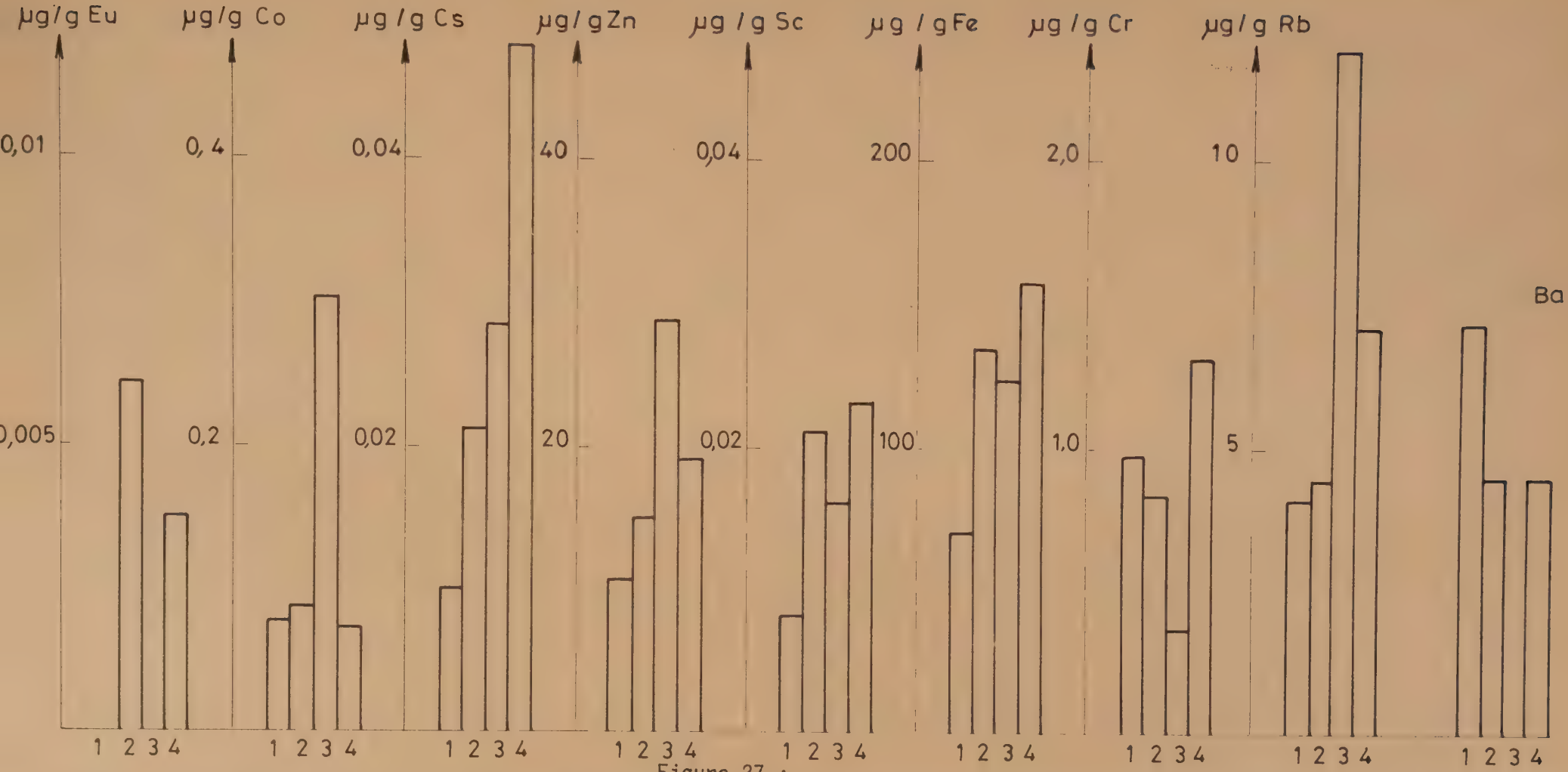


Figure 27 :
Teneur des éléments Eu, Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les plantes de la région de St. Jean en µg/g de matière séche

1 - Foin 3 - Vigne
2 - Cerisier 4 - Noyer

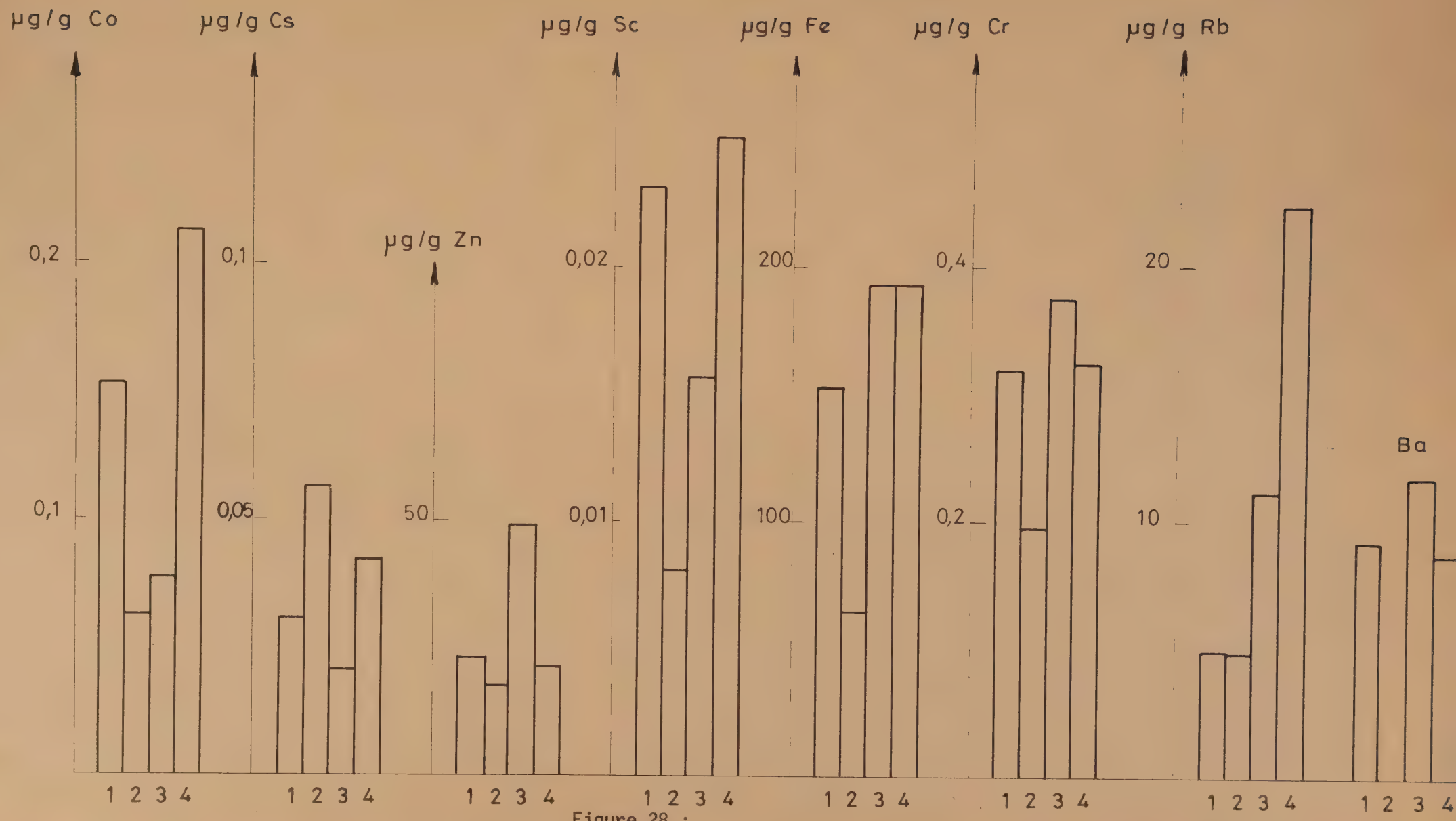


Figure 28 :
Teneur des éléments Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les végétaux de la région de St. Etienne de Cuisne en µg/g de matière sèche

1 _ Pommier 3 _ Vigne
2 _ Noyer 4 _ Foin

- poirier . . . . . Figure 35
- foin . . . . . " 36
- vigne et raisin . . . . . " 37 A, B et C
- carotte (fane, racine) et cerfeuil . . . . . " 38
- salade . . . . . " 39
- blé et farine . . . . . " 40

Ces histogrammes montrent clairement que les plantes appartenant à la même variété retiennent et accumulent des quantités variables des éléments analysés.

Une troisième considération aurait été intéressante à envisager : à savoir examiner si différents individus de même espèce, en un même site, présentent des variations liées à la phase de croissance. Il ne nous a pas été possible de le faire ; nos prélèvements représentent une moyenne pour une espèce donnée, en un lieu donné.

IV.8 Discussion :

Chaque espèce végétale représente, dans un certain sens, un système autonome, capable de survivre, mûrir et donner naissance à une nouvelle génération. Mais, en laissant de côté les différences anatomiques les plus évidentes, il existe bien d'autres différences dans la physiologie et les mécanismes intimes des diverses espèces. Cela s'applique en particulier aux oligoéléments. La quantité de ces derniers présente dans les plantes dépend directement de leur rôle biochimique, des besoins structuraux de chaque espèce, ainsi que de la phase du cycle biologique et de l'état de développement physiologique dans lequel se trouvent les plantes au moment de l'expérience. Il a été noté, dans les arbres fruitiers, que la quantité de quelques éléments, comme par exemple le fer, s'élève progressivement, pendant la période active de végétation, et baisse ensuite pour atteindre un niveau constant dans les feuilles jusqu'à la chute automnale. Nos résultats montrent que, pour le fer, la plupart des plantes

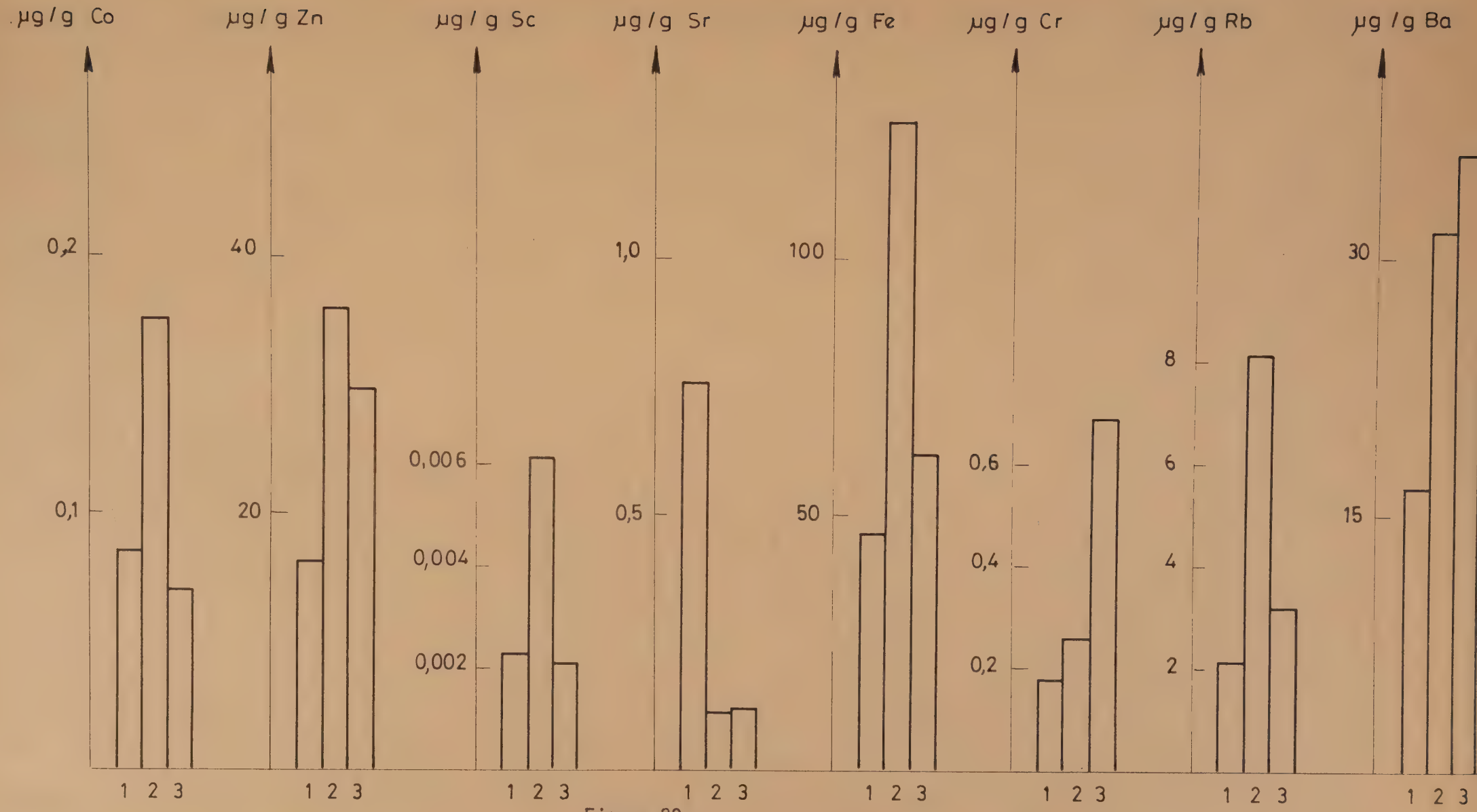


Figure 29 :
Teneur des éléments Co, Zn, Sc, Sr, Fe, Cr, Rb, Ba, dans 3 variétés de chou en µg/g de matière sèche

1 - Chou rouge
2 - Chou ordinaire
3 - Chou-fleur

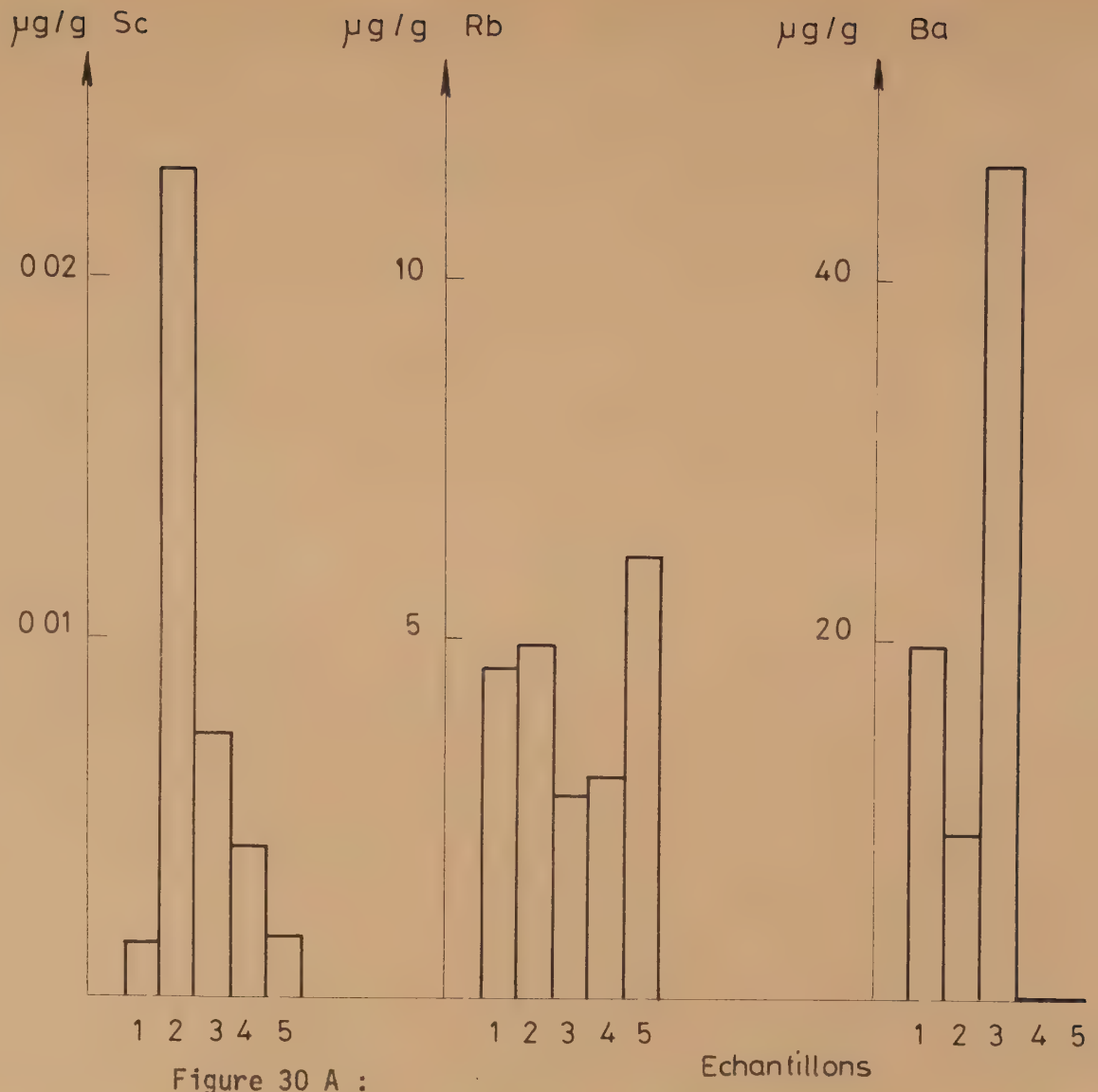


Figure 30 A :

Teneur des éléments Eu, Co, Cs, Zn, Fe, Cr, Sc, Rb, Ba dans les feuilles de pommiers et dans les fruits

1 - Pommier
2 - Pommier
3 - Pomme
4 - Pomme d'hiver
5 - Pomme de Septembre

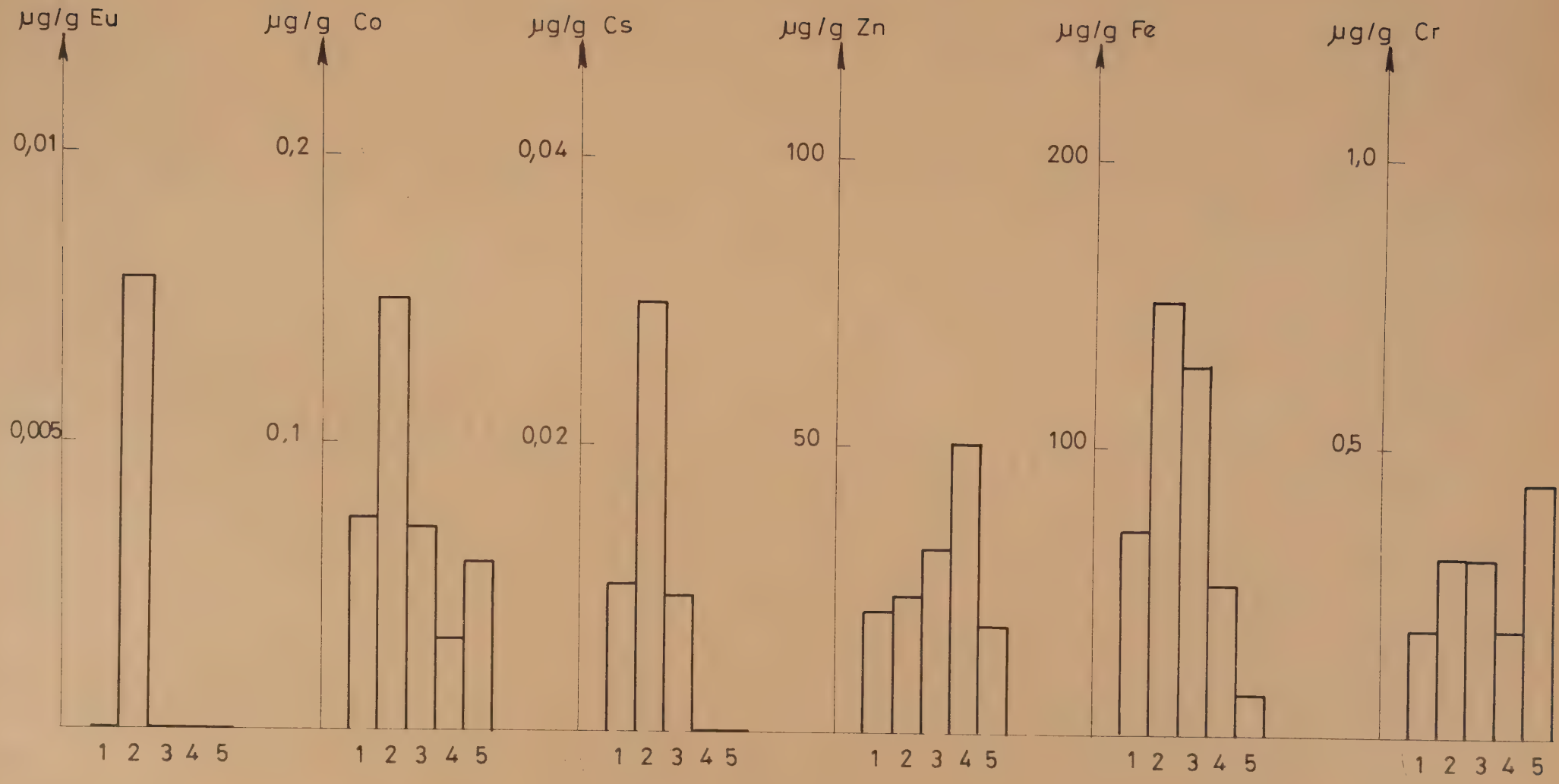

µg/g Eu
0,01
0,005
1 2 3 4 5
µg/g Co
0,2
0,1
1 2 3 4 5
µg/g Cs
0,04
0,02
1 2 3 4 5
µg/g Zn
100
50
1 2 3 4 5
µg/g Fe
200
100
1 2 3 4 5
µg/g Cr
1,0
0,5
1 2 3 4 5

Figure 30 B

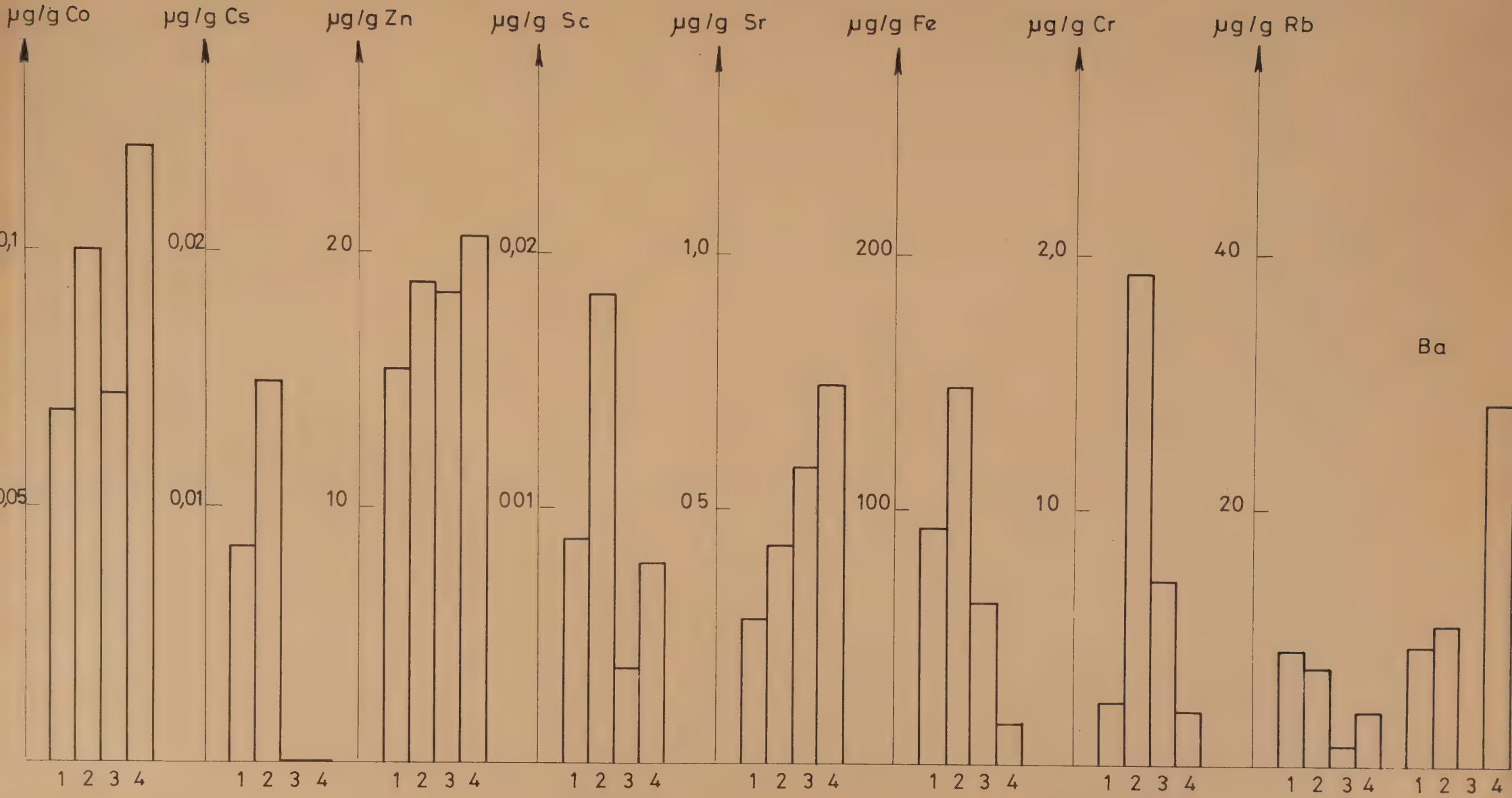


Figure 31 :

Teneur de Co, Cs, Zn, Sc, Sr, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les feuilles d'arbres fruitiers en µg/g de matière sèche

1 - Prunier 3 - Pêcher

2 - Pruneaux 4 - Cognassier

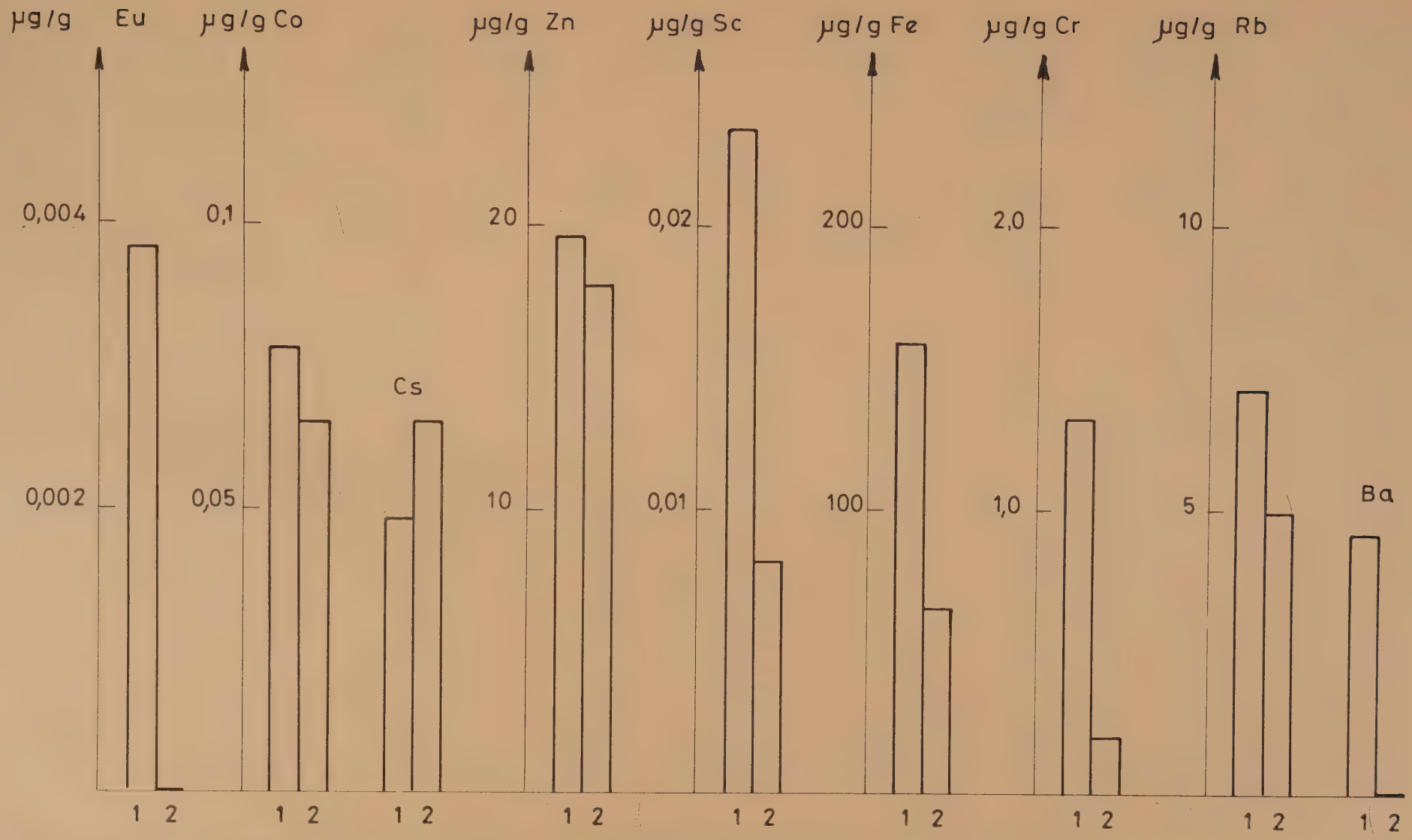


Figure 32 : Teneur des éléments Eu, Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les noyers en µg/g de matière sèche

1 - St. Etienne de Cuisne

2 - Pontamafrey

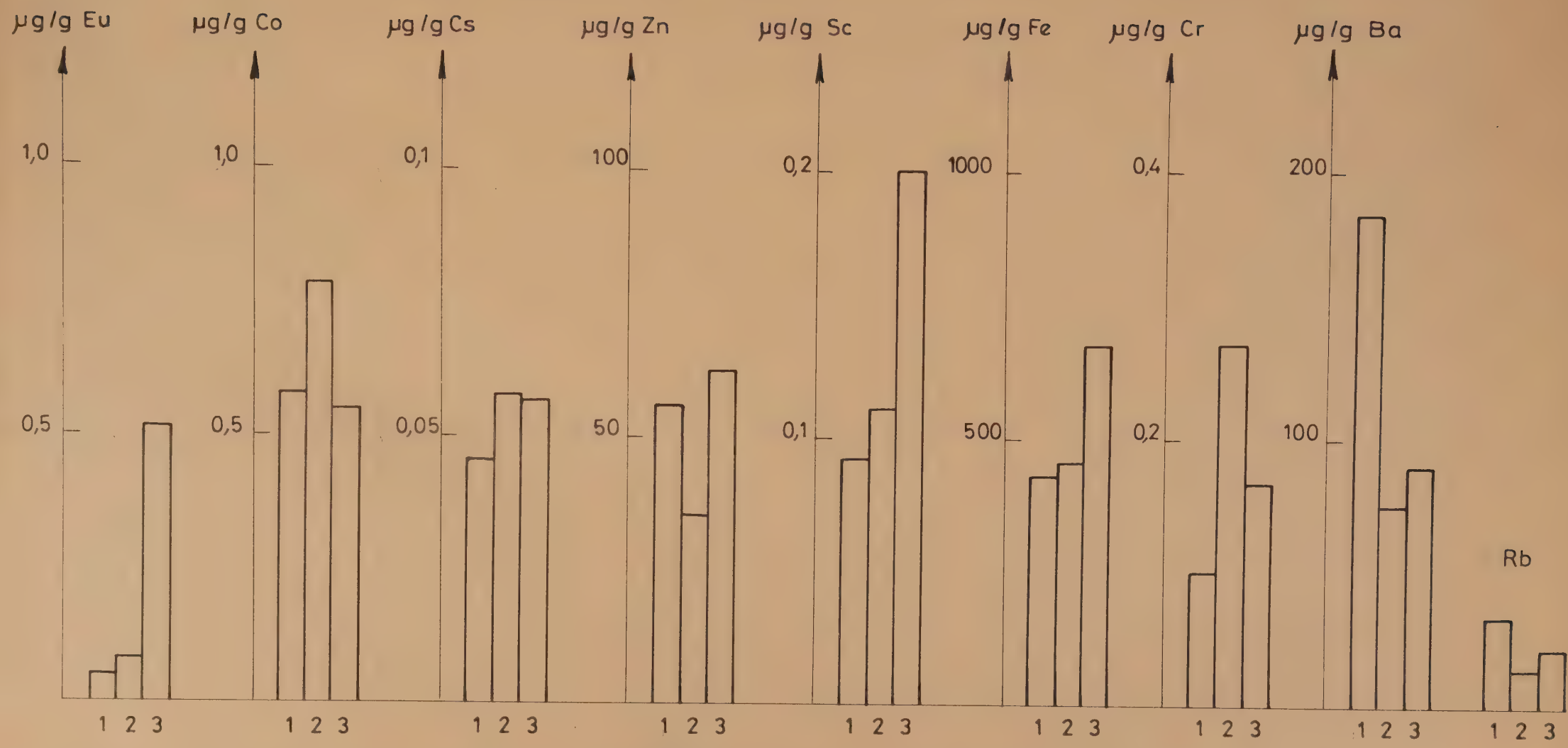


Figure 33 :
Teneur de Eu, Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Ba, Rb, dans le tabac d'origines différentes en µg/g de matière sèche

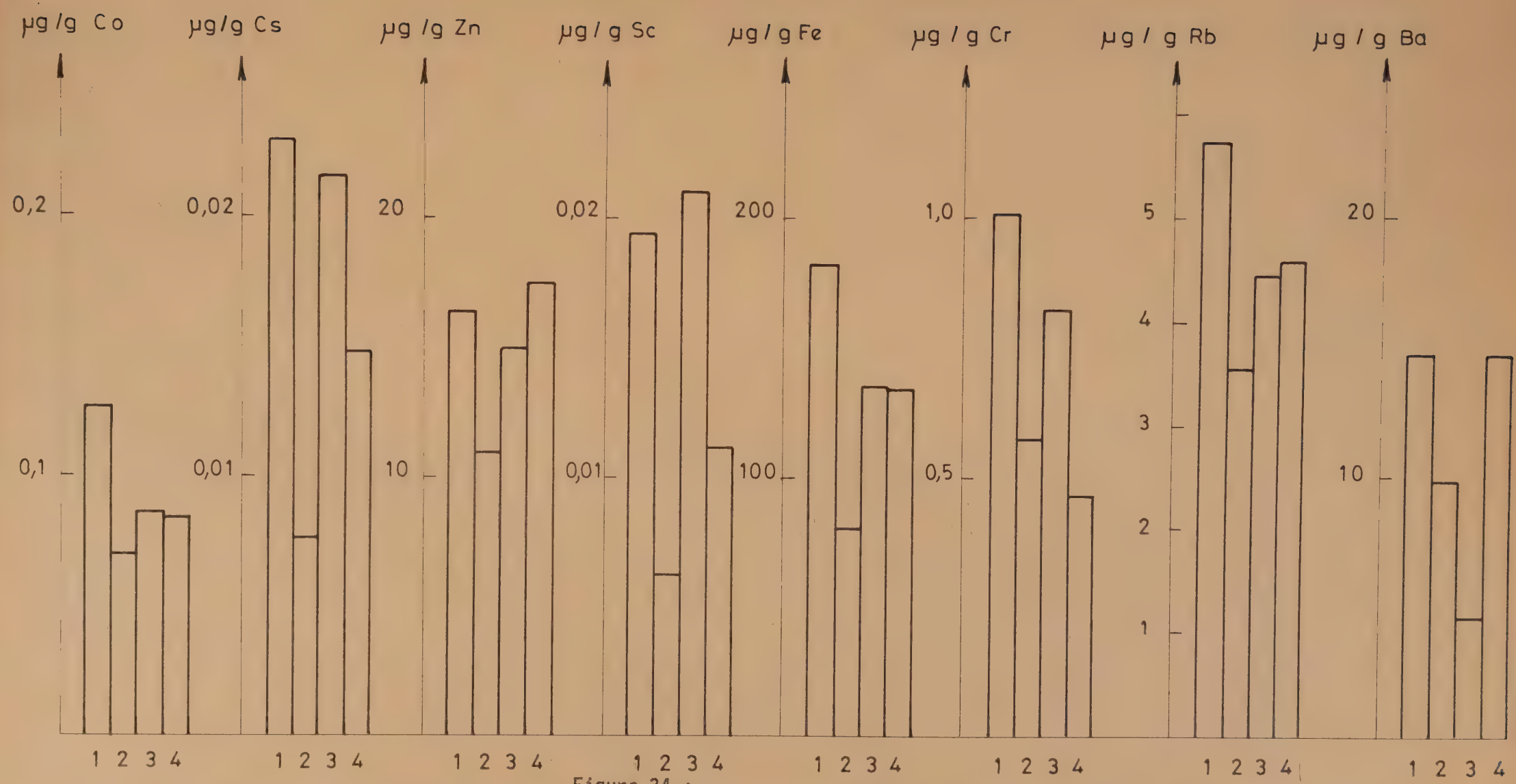


Figure 34 :
Teneur des éléments Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les feuilles de cerisier en µg/g de matière séche

1 - Villargondran
2 - Abymes
3 - St Jean
4 - Pontamafrey

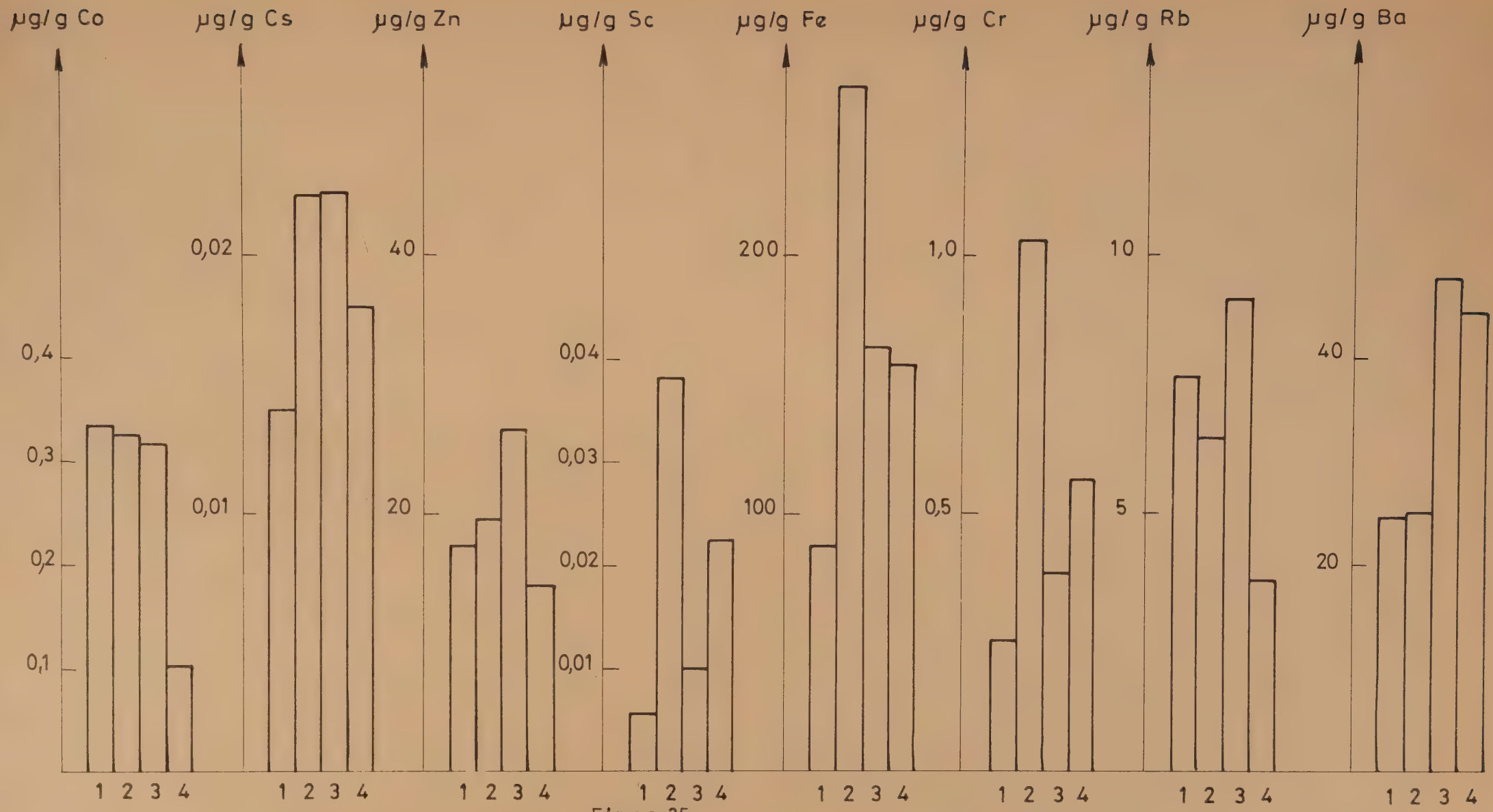


Figure 35 :

Teneur des éléments Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les feuilles de poirier en µg/g de matière sèche.

1 - Abymes
2 - Villargondran
3 - Pontamafrey
4 - Le Villaron

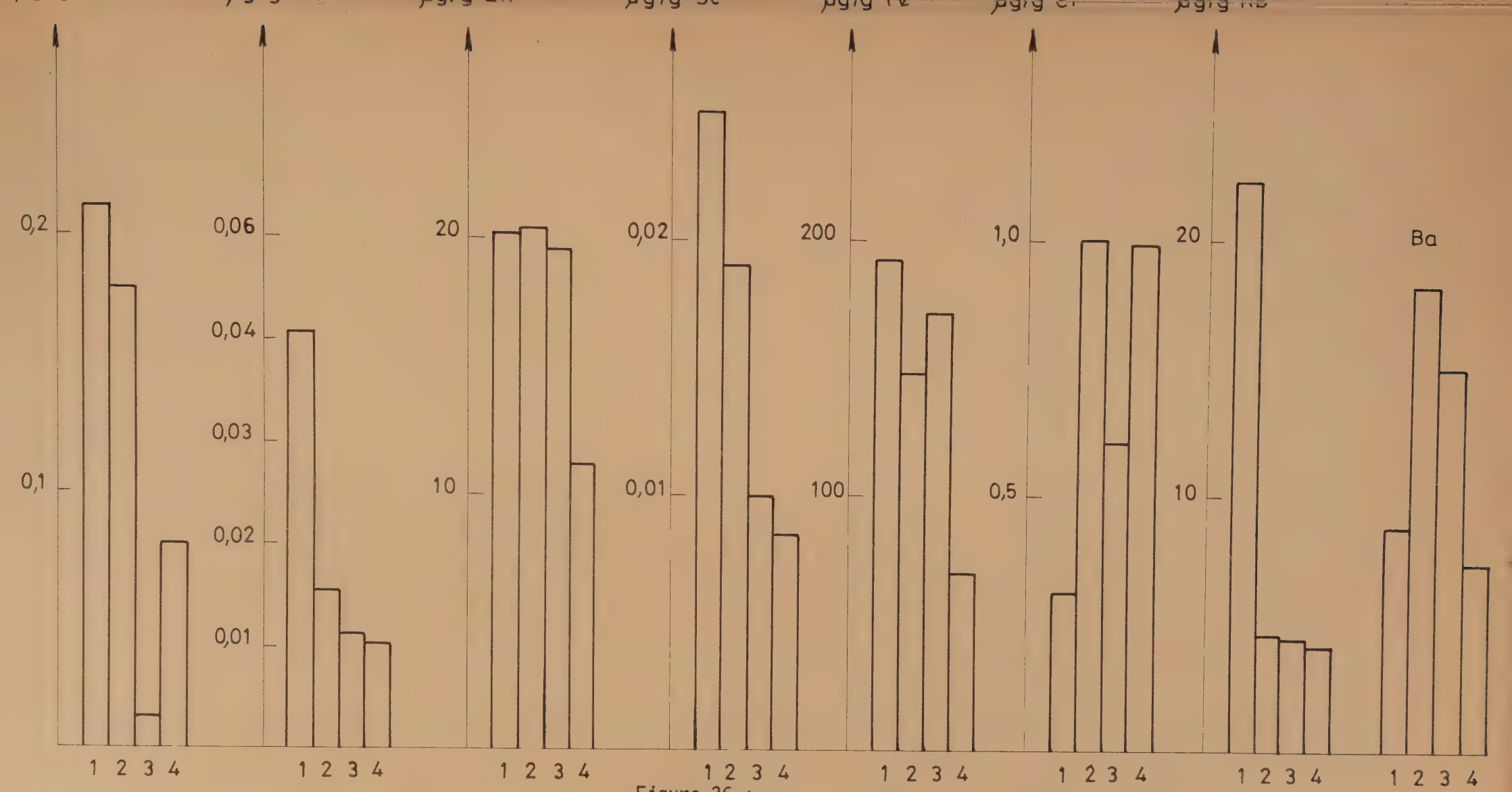


Figure 36 :
Teneur des éléments Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans le foin en µg/g de matière sèche

1 - St. Etienne de Cuisne
2 - Villargondran
3 - Pontamafrey
4 St. Jean

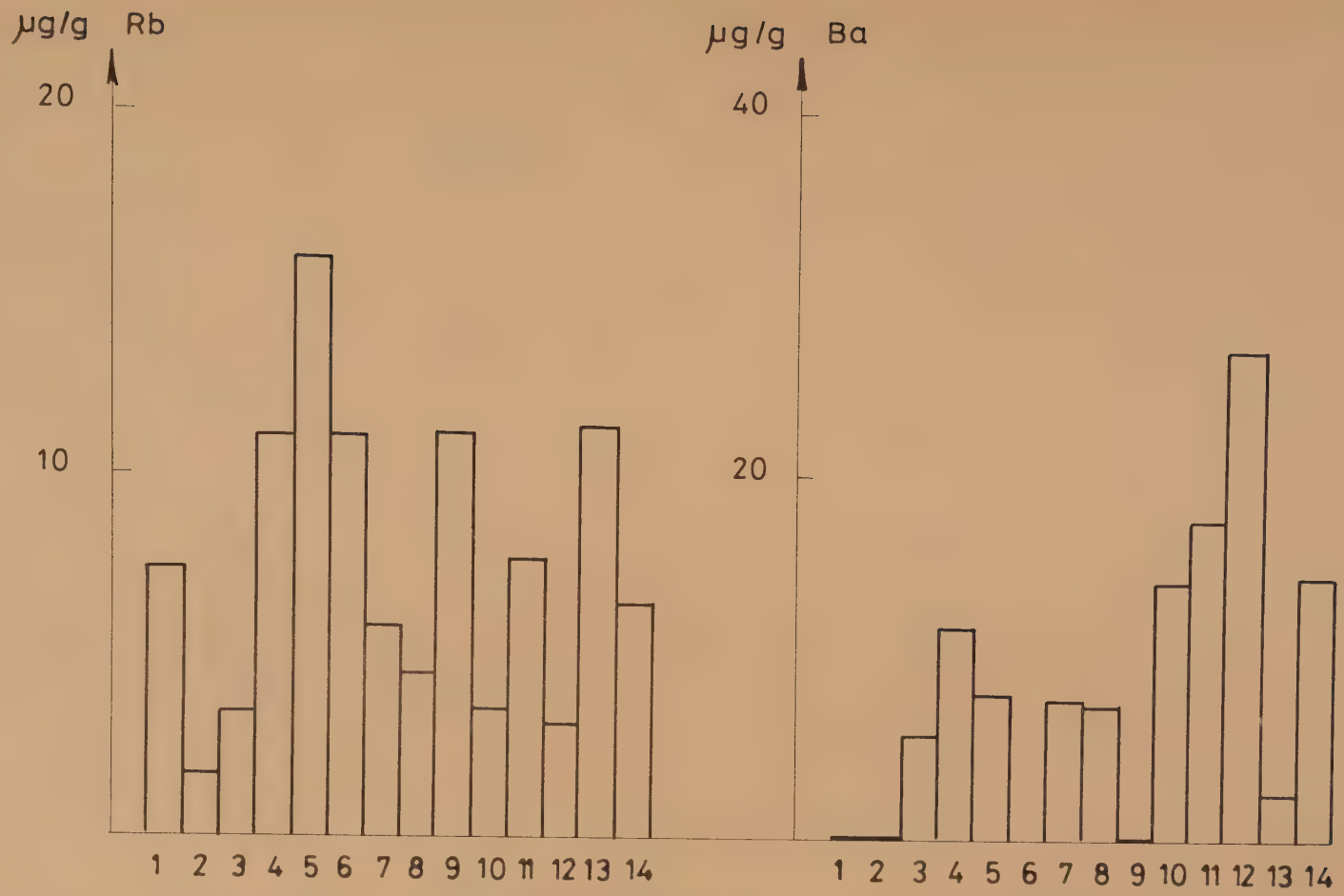
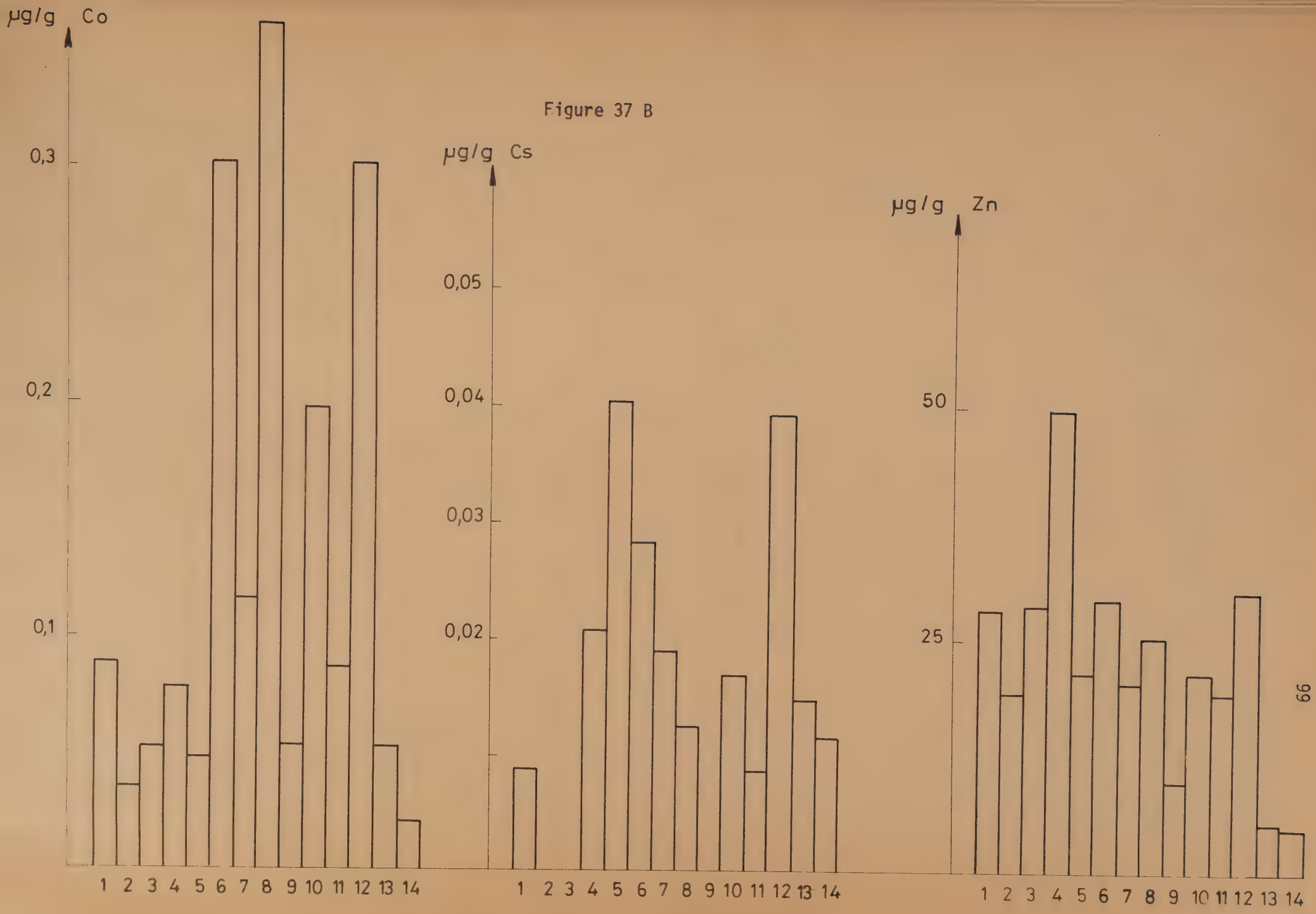


Figure 37 A :
Teneur des éléments Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans la vigne et le raisin prélevés sur différents terrains

1 - Abymes
2 - Abymes
3 - Abymes
4 - St.Etienne de Cuisne
5 - Pontamafrey
6 - St. Jean
7 - Villargondran
8 - Le Villaron
9 - Raisin
10 - Vigne
11 - 101 - Vigne
12 - 109 - Vigne
13 - 100R - Raisin
14 - 109R - Raisin

Figure 37 B


µg/g Co
0,3
0,2
0,1
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
µg/g Cs
0,05
0,04
0,03
0,02
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
µg/g Zn
50
25
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

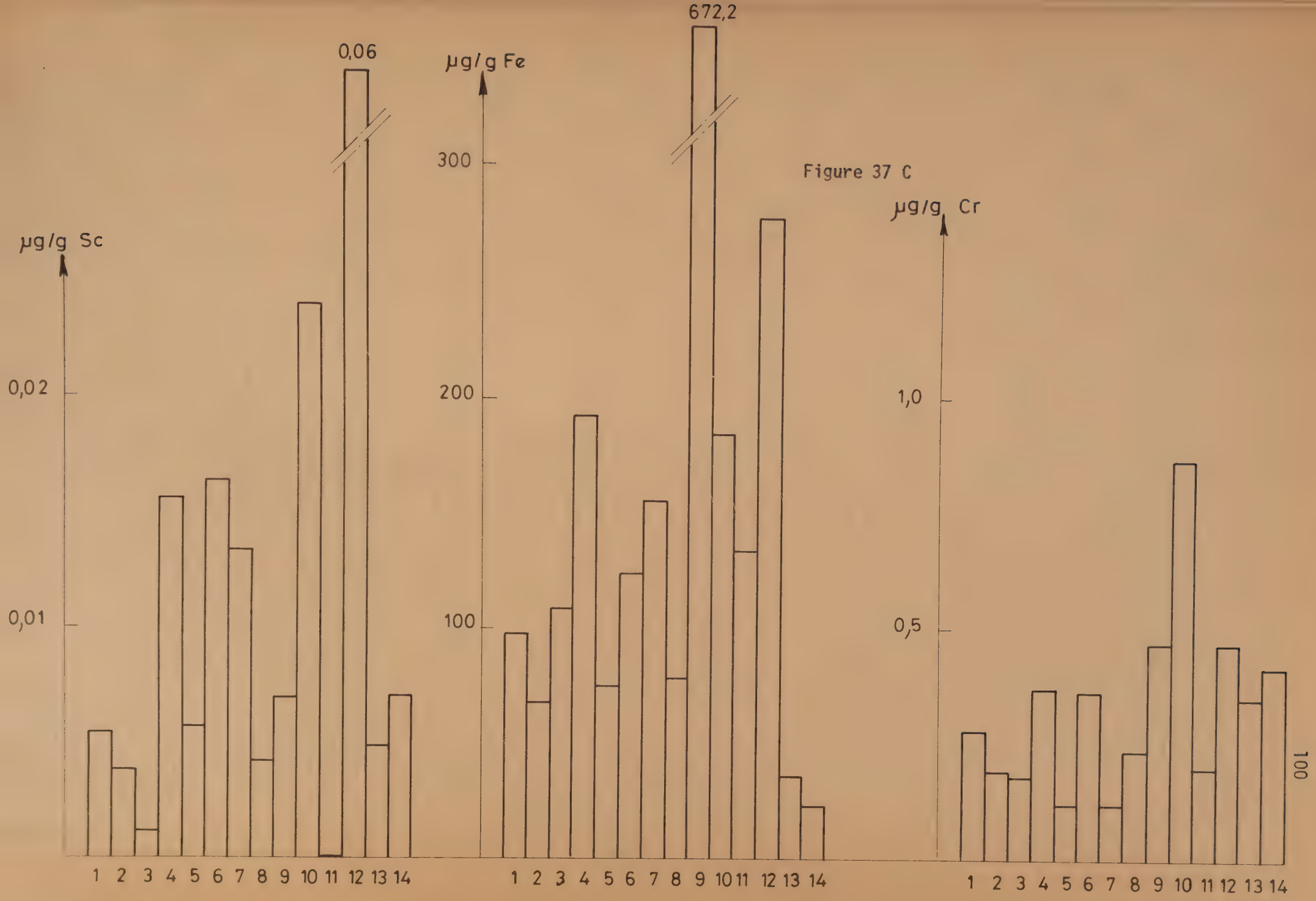

µg/g Sc
0,06
0,02
0,01
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
µg/g Fe
672,2
300
200
100
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
µg/g Cr
1,0
0,5
100
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

Figure 37 C

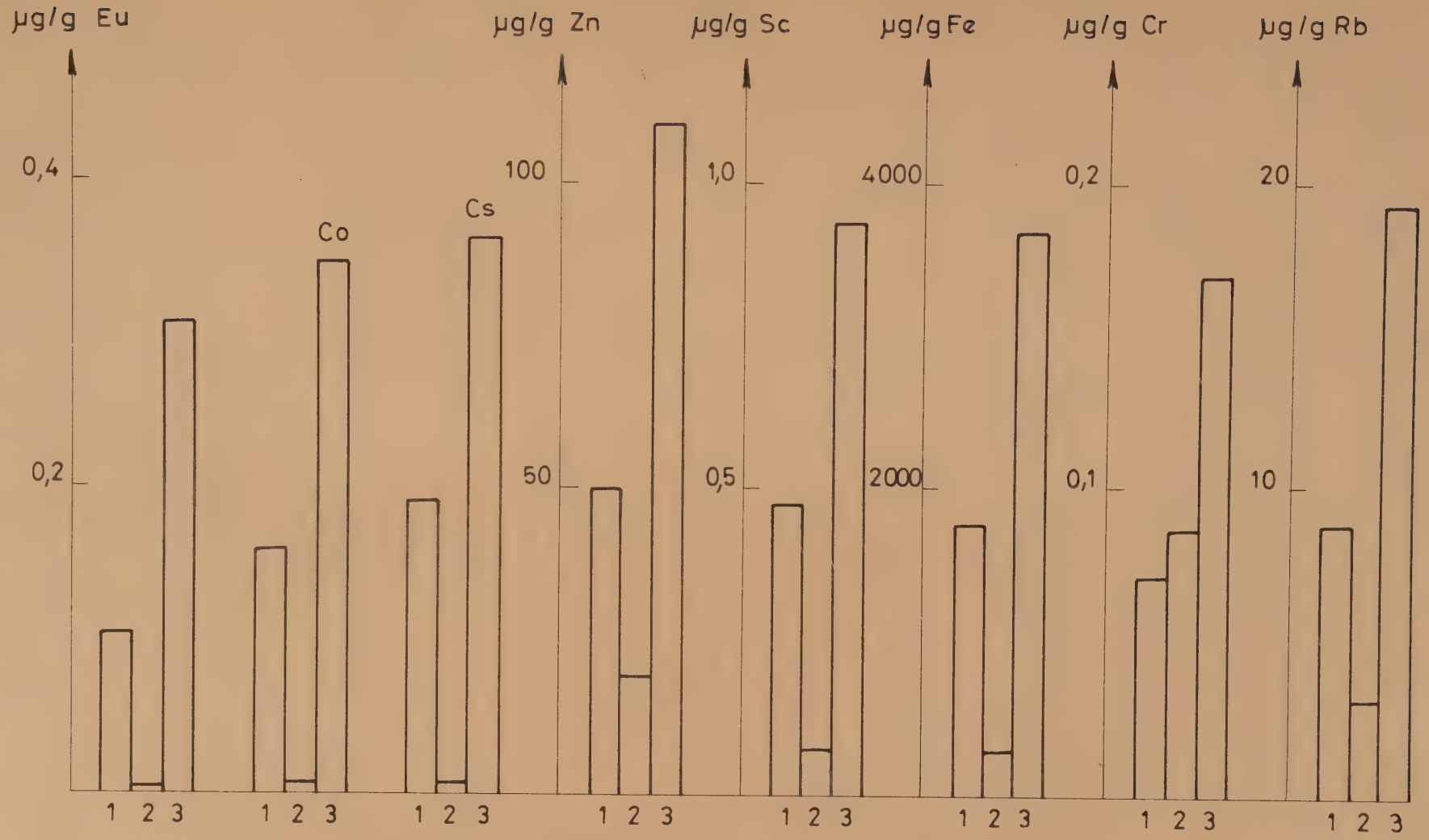


Figure 38 : Teneur des éléments Eu, Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, µg/g de matière sèche

1 - Carotte feuille

2 - Carotte

3 - Cerfeuil

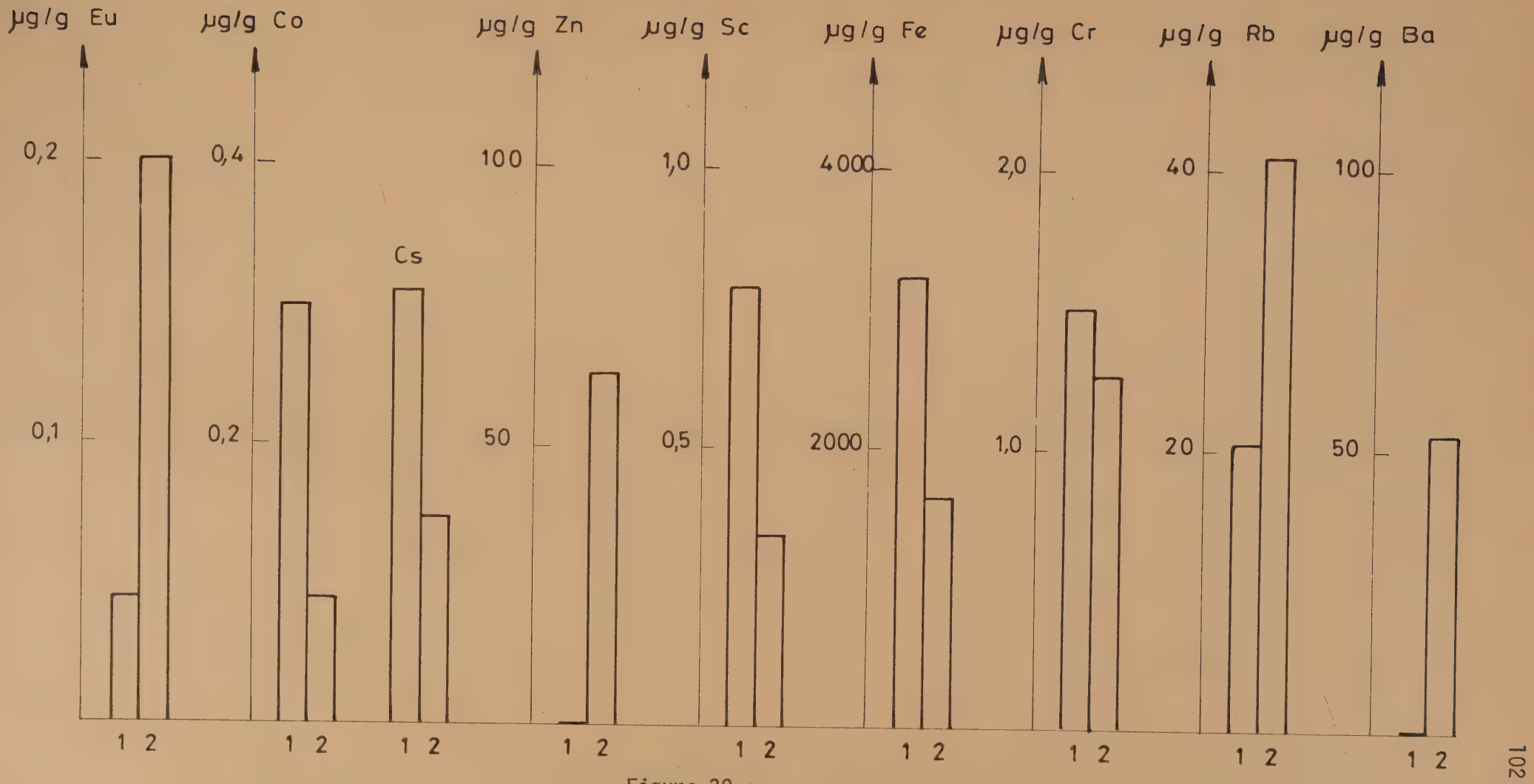


Figure 39 :

Teneur des éléments Eu, Co, Cs, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, Ba, dans les salades de 2 régions

1 - Villargondran

2 - Abymes

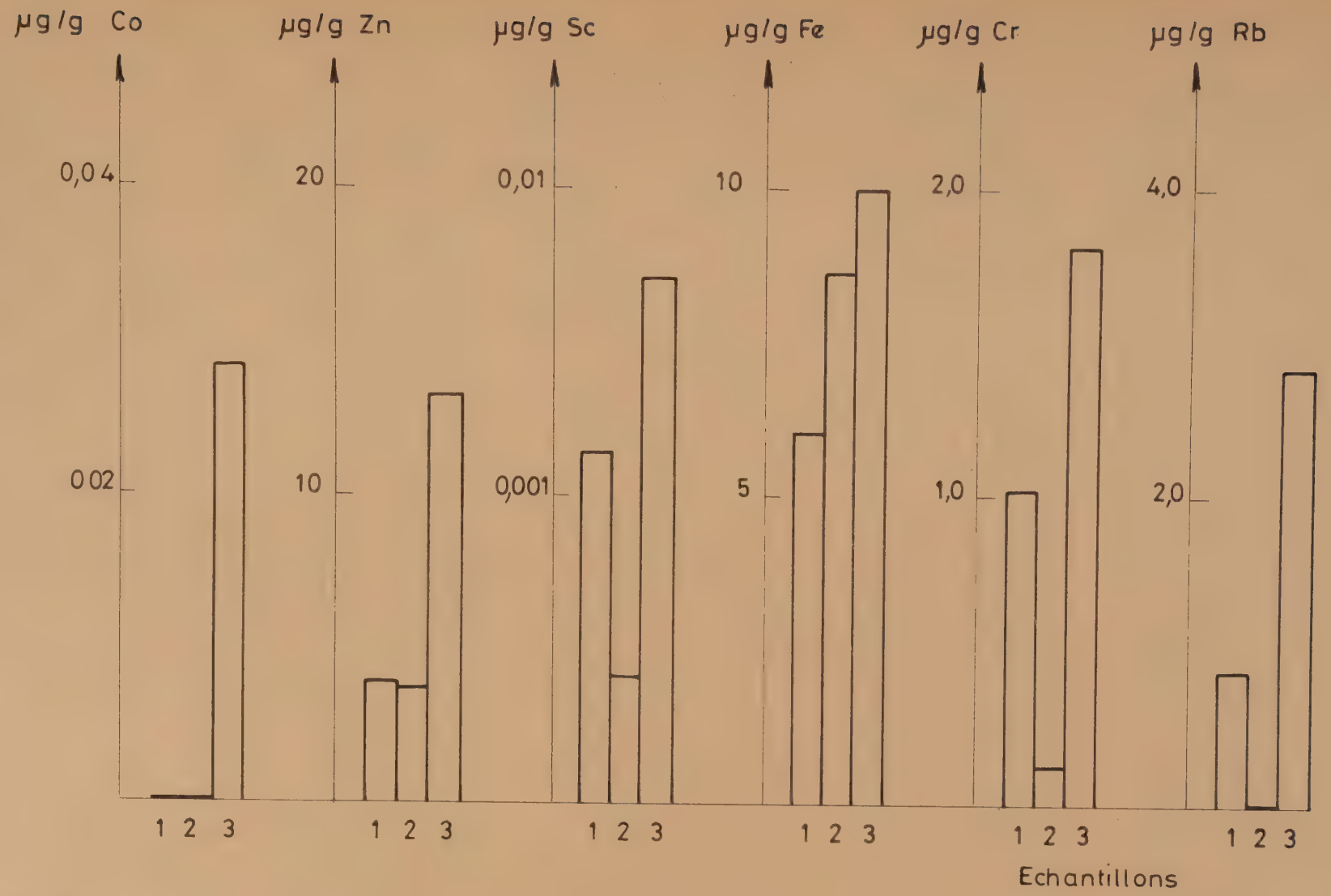


Figure 40 : Teneur des éléments Co, Zn, Sc, Fe, Cr, Rb, dans les 2 sortes de farine et dans le blé en µg/g de matière sèche.

1 - Farine de luxe

2 - Farine du boulanger

3 - Blé

contiennent de 100 à 200 µg de cet élément par gramme sec ; dans certaines feuilles : salade, cerfeuil, fanes de carotte, le fer atteint jusqu'à 1000-3000 µg par g sec. Pour le zinc, le niveau normal est 20 à 30 µg/g ; pour le cobalt, 0,1 à 0,5 µg/g, pour le rubidium, 10 µg/g, pour le césium, 0,02 µg/g; pour le chrome, 0,2 à 1 µg/g et pour le baryum, 10 µg/g. En ce qui concerne l'europium, le scandium et le strontium, l'ordre de grandeur est de 0,1 µg/g, parfois moins, sauf pour le strontium.

En regardant les résultats obtenus pour différentes espèces, il apparaît que les feuilles de vigne et de tabac, sont celles qui donnent les spectres les plus complets. Dans ces cas-là, nous avons déterminé qualitativement une vingtaine d'éléments. En ce qui concerne le tabac, il convient de faire une réserve, étant donné que la matière sèche provient d'une fermentation qui a déjà réduit le poids par rapport à la feuille d'origine.

A partir de nos résultats, nous pouvons constater aussi que la composition minérale de quelques fruits et organes de réserve (pomme, carotte, raisin) est bien moins riche que celle des feuilles des mêmes plantes. Le même fait existe chez le blé complet et la farine : cela s'explique par la présence d'une grande quantité de glucides, amidon ou sucres, selon les cas, constituant une part importante de la matière sèche et réduisant d'autant la proportion de cendres.

Nos expériences montrent également la possibilité exceptionnelle d'accumulation pour presque tous les éléments étudiés dans des légumes verts tels que la salade, le cerfeuil et les fanes de carotte. Cela correspond bien au choix qui a été fait de la salade comme plante-indicateur dans le contrôle de la radioactivité ambiante. La salade est ainsi une excellente espèce pour les expériences.

CINQUIEME PARTIE

V - DOSAGE DU FLUOR DANS DES VEGETAUX CULTIVES, A L'AIDE DE L'ACTIVATION PAR NEUTRONS RAPIDES DE 14 MeV :

La pollution fluorée au voisinage des usines d'aluminium n'est pas un problème nouveau, mais l'utilisation d'une méthode d'analyse par radioactivation permet de déterminer avec rapidité les teneurs relativement fortes de fluor qui s'accumulent sur les parties aériennes des végétaux : il s'agit d'une méthode d'activation par les neutrons de 14 MeV précédemment décrite et comparée avec la méthode chimique, beaucoup plus longue /12, 25, 26, 27/.

Le présent travail est une enquête sur les niveaux de contamination des plantes cultivées à différentes distances d'une usine polluante. Les espèces prélevées sont : vigne, pommier, poirier, cerisier, foin et pomme de terre.

V.1. Rappel de la méthode :

Le fluor est dosé par une méthode non destructive comportant une activation de l'échantillon végétal sous neutrons rapides de 14 MeV et une mesure en spectrométrie gamma. Les neutrons de 14 MeV proviennent d'un accélérateur-générateur de neutrons de type SAMES, qui représente un appareil adapté à l'analyse par activation. Dans ce type d'appareil, les neutrons sont obtenus à partir d'une cible tritiée ; un faisceau de deutons d'intensité de 1,5 à 2,5 milliampères est accéléré sous 300 keV, tension obtenue à partir d'un générateur type FELICI ; le faisceau de deutons, en bombardant la cible de titane enrichi au tritium, produit la réaction :

$$^{3}_{1}H\ (d,\ n)\ ^{4}_{2}He$$

Le débit moyen de neutrons autour de la cible est de $1{,}2.10^{11}$ $n.s^{-1}$. $4\ \pi$.

Sous l'effet de ces neutrons, le fluor 19, dont l'abondance isotopique naturelle est de 100 %, donne les trois réactions du tableau XXVIII :

TABLEAU XXVIII : REACTIONS DU FLUOR 19

Réaction	Section efficace mb	Période du produit	Principales énergies (γ)	Interférences
$^{19}F(n, p)\ ^{19}O$	145	29 s	0,200 1,366	
$^{19}F(n, 2n)\ ^{18}F$	64	112 mn	0,151 (β^+)	
$^{19}F\ (n, \alpha)\ ^{16}N$	23	7,1 s	6,13 7,10	$^{16}O(n, p)^{16}N$

Nous avons retenu, pour le dosage, la réaction (1) et l'émission gamma de 200 keV de l'oxygène 19.

Les caractéristiques de l'activation sont les suivantes :
- irradiation : 2 mn ;
- décroissance radioactive : 30 s ;
- comptage : 2 mn ;
- débit de neutrons : $1,2.10^{11}$ $n.s^{-1}.4\ \pi$.

Le débit de neutrons n'est pas rigoureusement constant ; aussi, pour comparer les activations des échantillons et de l'étalon, est-il nécessaire de les contrôler en valeur relative d'une irradiation à l'autre. Pour cela, nous disposons d'un détecteur à scintillations (plastique) placé en position fixe ; le nombre d'impulsions enregistré pour chaque irradiation sert à introduire une correction d'activation dans le calcul de la teneur en fluor.

V.2. Préparation des échantillons :

La poudre végétale est tassée dans de petits tubes de polyéthylène pur, à concurrence de 1 g environ ; l'étalon est préparé à base de NaF ; après identification, les tubes sont dirigés vers l'irradiation qui se pratique à l'aide d'un dispositif pneumatique.

V.3. Résultats :

Les résultats d'analyse sont consignés dans une série de tableaux (XXIX, XXX, XXXI, XXXII, XXXIII) correspondant à chaque site de prélèvement, entre 1 et 10,5 km par rapport à l'usine. Les pollutions apparaissent comme importantes de 300 à plus de 1000 µg par gramme de matière sèche ; à titre de référence, indiquons que les végétaux des zones non polluées ne contiennent que 20 à 30 µg par gramme de fluor.

L'examen des tableaux montre que le facteur distance est moins important que celui de l'espèce végétale, tout au moins tant que cette distance reste faible. La pomme de terre accumule facilement le fluor, peut-être à cause de la structure de son feuillage ; inversement, une prairie, fauchée peu de temps avant le prélèvement, n'est que très faiblement contaminée.

V.4. Discussion :

Le présent travail montre comment, à partir d'une méthode d'analyse par radioactivation, il est possible d'aborder un problème de pollution de l'environnement. Une conception écologique de l'influence des pollutions exige un grand nombre d'analyses tenant compte des conditions géographiques locales, de l'élément polluant -le fluor dans le cas présent - et des espèces végétales. Les feuilles de pomme de terre retiennent particulièrement le fluor, ainsi que les arbres fruitiers et la vigne : cela entraîne des dégâts sur les parties aériennes de ces plantes. Des études physiologiques faites parallèlement dans le laboratoire montrent, en effet, que le fluor migre peu vers les parties inférieures de la plante mais s'accumulent aux extrémités des feuilles principalement.

TABLEAU XXIX : Station I :

QUANTITE DE FLUOR EN $\mu g.g^{-1}$ DE MATIERE SECHE ACCUMULEE PAR QUELQUES CULTURES

(Distance de l'usine : 1 000 m ; altitude : 600 m)

Sortes de végétaux	Flux neutrons	Surface pic	Correction de flux	Surface corrigée	Surf. échant. / Surf. témoin	FLUOR (ppm) ± 19,1 %
Poirier	2255	7470	1,011	7552	1,237	876,1
Vigne	2218	7787	1,027	7997	1,309	931,6
Pomme de terre	2210	11924	1,031	12294	2,013	1409,6
Cerisier	2218	6328	1,027	6499	1,064	798,2
Foin	2155	3336	1,058	3529	0,578	528,3

TABLEAU XXX : Station 2 :

QUANTITE DE FLUOR EN $\mu g.g^{-1}$ DE MATIERE SECHE ACCUMULEE PAR QUELQUES CULTURES

(Distance de l'usine : 2 500 m ; altitude : 700 m)

Sortes de végétaux	Flux neutrons	Surface pic	Correction de flux	Surface corrigée	Surf. échant. / Surf. témoin	FLUOR (ppm) ± 19,1 %
Cerisier	2113	4139	1,079	4466	0,731	608,6
Vigne	2117	6598	1,076	7099	1,162	784,6
Noyer	2272	6676	1,003	6698	1,096	781,1

TABLEAU XXXI : Station 3

QUANTITE DE FLUOR EN $\mu g.g^{-1}$ DE MATIERE SECHE ACCUMULEE PAR QUELQUES CULTURES

(Distance de l'usine : 5 500 m ; altitude : 650 m)

Sortes de végétaux	Flux neutrons	Surface pic	Correction de flux	Surface corrigée	Surf. échant. / Surf. Témoin	FLUOR (ppm) ± 19,1 %
Poirier	2226	2690	1,024	2755	0,451	393,8
Cerisier	2173	3816	1,049	4003	0,655	470,2
Vigne	2243	6702	1,016	6809	1,115	789,6
Foin	2207	5395	1,033	5573	0,912	739,0

TABLEAU XXXII : Station 4 :

QUANTITE DE FLUOR EN $\mu g.g^{-1}$ DE MATIERE SECHE ACCUMULEE PAR QUELQUES CULTURES

(Distance de l'usine : 10 000 m ; altitude : 600 m)

Sortes de végétaux	Flux neutrons	Surface pic	Correction de flux	Surface corrigée	Surf. échant. / Surf. témoin	FLUOR (ppm) ± 19,1 %
Pommier	2182	3805	1,044	3972	0,650	560,8
Noyer	2164	4917	1,053	5178	0,848	640,9
Vigne	2137	5232	1,066	5577	0,913	699,6
Foin	2190	3694	1,041	3845	0,629	571,2

TABLEAU XXXIII : Station 5 :

QUANTITE DE FLUOR EN $\mu g.g^{-1}$ DE MATIERE SECHE ACCUMULEE PAR QUELQUES CULTURES

(Distance de l'usine : 10 500 m ; altitude : 800 m)

Sortes de végétaux	Flux neutrons	Surface pic	Correction de flux	Surface corrigée	Surf. échant. / Surf. témoin	FLUOR (ppm) ± 19,1 %
Vigne	2210	6387	1,053	6686	1,094	923
Pommier	2113	5669	1,079	6117	1,002	832
Pomme	2122	4605	1,074	4946	0,809	515,9
Poirier	2111	2162	1,079	2333	0,382	299,1

CONCLUSION GENERALE

Le rôle des éléments constitutifs de la matière vivante n'est pas discutable ; il y a longtemps que les savants les ont classés en deux groupes : les macroéléments - dits éléments plastiques parce qu'ils forment la masse des tissus - et microéléments, dont les oligoéléments - qui ne jouent évidemment qu'un rôle effacé dans la construction des organismes, mais un rôle primordial dans leur fonctionnement.

En faisant abstraction de l'aspect quantitatif - seulement 0,04 % de la matière organique - il faut reconnaître que leur rôle est tel que le nom d'élément mineur a dû être abandonné. Nous avons cité déjà certaines molécules biologiques à l'organisation desquelles ils participent : peut-être ne savons-nous pas tout ? Pourquoi le fer, plutôt qu'un autre élément, participe-t-il à la constitution de la molécule d'hémoglobines, sans lesquelles nous ne pouvons vivre ? Le cuivre aurait pu jouer ce rôle comme il le fait chez les gastéropodes.

En étudiant nos spectres, nous avons vu que des feuilles de tabac et de vigne contiennent beaucoup plus d'éléments que les autres échantillons. Elles accumulent une gamme de minéraux beaucoup plus large que les autres. Mais certains de ces éléments sont toxiques ou peuvent le devenir lorsqu'ils se trouvent en quantité plus grande ; d'autres nucléides encore peuvent être radioactifs. Nous avons vu que les différentes plantes accumulent des quantités différentes de ces éléments. Il faut aussi souligner que nos résultats montrent combien la composition minérale de la salade, des fanes de carotte ou du cerfeuil est plus riche que celle d'autres échantillons, ce qui ajoute à la valeur diététique de ces légumes ou ingrédients.

Ce souci diététique n'est pas étranger à celui, parfois contestable, mais révélateur d'un besoin profond, des défenseurs de la culture dite "biologique". Les partisans les plus sérieux de cette méthode partent du principe que l'apport systématique d'engrais chimique compense les exportations du sol en

éléments majeurs (N, P et K) mais pas en oligoéléments, pour lesquels les sols s'épuisent à mesure que les rendements augmentent. En revenant à des engrais naturels à composition diversifiée et en acceptant même une diminution de rendement, ils pensent produire des aliments mieux pourvus en oligoéléments. Les puissantes associations qui soutiennent ces programmes sont prêtes à démontrer scientifiquement par alanyse de telles assertions.

Le milieu naturel d'un côté, et l'intervention de l'homme dans la nature de l'autre, exigent de nous d'en savoir plus dans ce nouveau domaine qu'on appelle maintenant écophysiologie. Les raisons de cette meilleure connaissance ne manquent pas : si les sols sont trop riches en certains minéraux toxiques et que notre connaissance de leur accumulation par les plantes soit suffisante, il est possible d'éviter les accidents en cultivant sur ces terrains des plantes qui ne les accumulent pas. Par contre, en U.R.S.S. sont cultivées des plantes qui accumulent des éléments recherchés et servent d'indicateurs géochimiques pour la prospection de gisements nouveaux.

Une autre raison de connaître l'accumulation des minéraux par les végétaux et leur transfert écologique est la nécessité de contrôler la pollution de l'environnement. Pour ce faire, on s'intéressera à des microéléments réputés toxiques et rejetés par les activités de l'homme et de son industrie : métaux toxiques, pesticides, pollutions atmosphériques, radionucléides, etc.

Il nous paraît nécessaire de dire encore quelques mots ici de cette méthode remarquable qu'est l'analyse par radioactivation : en effet, le développement des méthodes utilisées pour la recherche est un point extrêmement important. Nous avons cité dans cette thèse plusieurs résultats obtenus par divers auteurs : cela représente au total un travail énorme de plusieurs années, qui n'a d'ailleurs progressé qu'au fur et à mesure du développement de la chimie analytique. Aujourd'hui, grâce au développement des nouvelles techniques, à l'amélioration de la sensibilité des méthodes, il devient possible d'effectuer plusieurs analyses non seulement sur un seul élément, mais sur plusieurs simultanément, dans un délai beaucoup plus court.

En prenant connaissance de ces méthodes récentes, et en les appliquant à des problèmes d'écologie, nous souhaitons contribuer à répandre l'emploi de l'analyse par radioactivation. Nous reprenons à notre compte, pour terminer, cette pensée d'un auteur américain :

"Les possibilités de l'analyse par activation n'ont pour limites que celles de notre propre imagination".

—

B I B L I O G R A P H I E

[I] ALBERT Ph., I963 - L' analyse par radioactivation - Gauthier-Villars et Cie , PARIS. I67 p.

[2] ANONYME ., I969 - Index des produits phytosanitaires.FéD.nat. des groupments de protection des cultures, PARIS. 286 p.

[3] BARNES ., P.G report 834(w).

[4] BAROCCIO A., SAPONARO A., I960 - Gli stati del rame in diversi terreni e gli effetti sulle piante coltivate - Ann.Sper.Agr.I4, 385 .

[5] BECHARD M., BITTEL R., I97I - Rapport de stage - DRF/BV - CENG. FRANCE.

[6] BERTRAND G., BENZON B., I928 - C.R.Acad.Sci. I87 ,I098.

[7] BERTRAND G., MACHEBOEUF R., I925 - Bull.Soc.Chim. Fr. 4 serie.

[8] BERTRAND G.,BERTRAND D., I949 - C.R.Acad.Sci. 229 , 453.

[9] BERTRAND G., VERTRAND D., I949 - C.R.Acad.Sci. 229 , 609 .

[I0] BOWEN H.J.M., GIBBONS D., I963 - Radioactivation analysis - Clarendon Press , Oxford. 295 p.

[II] BOWEH H.J.M., I972 - The biochemistry of trace elements - Symposium IAEA. BLED

[I2] BREYNAT G., FOURCY A., GARRECJ-P., I967 - Dosage rapide du magnésium et de l'aluminium dans les plantes par radioactivation sous neutrons de I4 MeV - Colloque sur les méthodes d'activation nucléaires dans les Sciences biologiques , AMSTERDAM. IAEA.

[I3] BYRN A.R., DERMELJ M., KOSTA L., I970 - The mercury content of some laboratory chemicals and materials determined by neutron activation analysis - J. of Rad.Chem., Vol 6. 325-330 .

[I4] COMAR D., (le) POEC Cl.; JOCY M., KELLERSHON Cl., - L'analyse par radioactivation. Application à la détermination de I,Hg,Cu,Mn et Zn dans les milieux biologiques. Mémoire présenté à la Société Chim., 56-75.

/ 15 7 COVELL, 1959 - Determination of gamma ray abundance directly from the total absorption peak. Anal. Chem., 31, 1785-1790.

/ 16 7 DAS, H.A., VAN DER SLOOT, H.A., 1972 - Determination of cadmium and mercury in biological samples and tap water. Symp. IAEA, BLED.

/ 17 7 DELAS, J., 1963 - La toxicité du cuivre accumulé dans les sols. Agrochimica 7, n° 3.

/ 18 7 DELAS, J. DELMAS, J. RIVES, M., BAUDEL, C., 1959 - Toxicité du cuivre dans les sols viticoles du Sud-Ouest Atlantique. C. R. Acad. Agr., 45, 13, 651.

/ 19 7 DELOR, M., 1970 - Dépouillement automatique de spectres gamma. CEA N-1381 (I).

/20 7 DIBBS, H.P., 1965 - Activation analysis with a neutron generator. Mines Branch Res. Report, R-155, Canada, 91 p.

/ 21 7 FER, A., 1967 - Analyse par radioactivation dans les matières végétales. Contribution d'ordre sanitaire. Thèse 3e cycle, GRENOBLE.

/22 7 FOURCY, A., 1965 - Contribution aux applications de l'analyse par activation neutronique en biologie végétale et en agronomie. Thèse Docteur-Ingénieur, GRENOBLE.

/ 23 7 FOURCY, A., FER, A., GARREC, J.-P., NEUBURGER, M., 1971 - Mise en évidence de la rétention des éléments polluants par les végétaux au moyen de l'analyse par activation neutronique. Symp. IAEA, SALZBURG.

/ 24 7 FOURCY, A., DOGNIN, J., FAURE, J., NEUBURGER, M. - 1966 - Applications de l'analyse par activation au dosage du cuivre en viticulture et dans les produits viticoles. Int. J. of Appl. Rad. and Is., 17, 629-636.

/ 25 7 GARREC, J.-P. - 1970 - Thèse de Docteur Ingénieur, GRENOBLE.

/ 26 7 GARREC, J.-P., FOURCY, A., 1969 - Etudes des possibilités analytiques de l'activation d'une matrice végétale à l'aide de neutrons rapides de 3 MeV. Note CEA N-1087.

/ 27 7 GARREC, J.-P., FER, A., FOURCY, A., 1968 - Une méthode de dosage rapide du fer, de l'aluminium et du silicium en pédologie. Analyse par activation au neutrons de 14 MeV, sans radiochimie. C. R. Acad; Sc., 268, 3021-3024.

/ 28 7 GARTEL, W., 1957 - Untersuchungen uber den kupfergehalt von Weinbergs und Rebschulboden. Weinb.und Keller, 4, 221.

/ 29 7 GOEY, J.J.M., HOUTMAN, J.P.W., TJIOE, P.S., KOEMAN, J.H., 1972 - Mercury distribution levels observed in various ecosystems as determined by neutron activation analysis. Symp. IAEA, BLED.

/ 30 7 GOUNTCHEV, Ch., FOURCY, A., BECHARD, M., BITTEL, R., SCHAAL, D., 1972 - Le contrôle de la qualité des aliments au moyen de l'analyse minérale de la matière végétale. Coll. de Coopération et de Promotion indust. sur le contrôle et la qualité dans l'Industrie Alimentaire. SOFIA, Bulgarie.

/ 31 7 GOUNTCHEV, Ch. NEUBURGER, M., FOURCY, A. (à paraître) - Recherches de traces toxiques dans des tabacs d'origine européenne, américaine et française à l'aide de l'analyse par activation neutronique. DOKLADI Acad. Agr. Bulg.

/ 32 7 GUERITHAULT, B., 1937 - Thèse Pharm. Sup. PARIS.

/ 33 7 GUINN, V.P., SCHMITT, R.A., 1964 - Determination of pesticide residues by neutron activation analysis. Resid. Rev., 5, 148-174.

/ 35 7 HALDAR, B.C., 1972 - Neutron activation analysis of copper, mercury and antimony by substoichiometric extraction technique. Int. Meeting on Activation Analysis, SACLAY, France.

/ 36 7 HUANG-OSMAN-OPHEL, 1969 - Line shape analysis of spectra obtained with Ge-Li detectors. Nuc. Inst. and Methods, 58, 141-148.

/ 37 7 JAVILLIER, M., 1907 - Thèse Science, PARIS.

/ 38 7 KIM, J.I., SUNOKO, S.R., 1972 - Activation analysis of mercury in biological samples. Int. Meeting on Activation Analysis, SACLAY, France.

/ 39 7 KIM, C.K., SILVERMAN, J., 1968 - The mercury content of worldwide samples of wheat. Ann. Nucl. Soc., 11, 54.

/ 40 7 KIM, C.K., SILVERMAN, J., 1964 - Trans. Ann. Soc., 7, 332.

/ 41 7 KJELLN, K.G., 1964 - Determination of sub-microgram quantities of copper in biological material by activation analysis. Int. J. of Appl. Rad. and Is., 15, 461-468.

/ 34 7 GUINN, V.P., 1964 - Neutron activation analysis of foodstiffs for pesticide residues. World Rev. of Pest. Control, 3, 138-147.

[42] KOCH R E., I960 - Activation analysis handbook - Academic Press, New York, 2I9 p.

[43] KOSTA L.,BYRNE A.R., I969 - Activation analysis for mercury in biological samples at nanogram level - Talanta, I6 , I297 p.

[44] KOUZNETZOV P.A., I967 - Activation analysis - Atomisdat. MOSKVA.

[45] LEE D.F., ROUGHAN J.A., I970 - Pesticide residues in foodstiffs in Great Britain - Pest.Sci. I , I50p.

[46] LENIHAN J.M.A., SMITH H., HARVEY W., I972 - Mercury hazards in dental practice:Assessment and control - Symposium IAEA. BLED.

[47] LENIHAN J.M.A., THOMSON S.J., I965 - ACTIVATION ANALYSIS - Academic Press , LONDON.207 p.

[48] LYON W.S.,BATE L.C., EMERY J.F., I972 - Environmental pollution : Use of neutron activation analysis to determine the fate of trace elements from fossil fuel combustion in the ecological cycle - Symposium IAEA.BLED.

[49] MAGUENNE L., DEMOUSSY E., I9I9 - Sur la richesse en cuivre des terres cultives - C.R.Acad.Sci. I69 ; 937.

[50] MAHLER N.P., ELOWE D.G., I953 , J.An.Chem.Soc. 75 , 5769.

[5I] MUNNECKE D.E., LUDVIG R.A., SAMPSON R.E., I959 - The fungicidal activity of methyl bromide - Can.J.Bot. 37 , 5I-58 p.

[52] PERDIJON J., I967 -L'analyse par activation - Masson et Cie. PARIS.

[53] RACOVIC M., I970 - Activation analysis - Academia. PRAGUE.

[54] REUTHER W., SMITH P.F., SCUDDER G.K., I953 - Relation of ph and soil type to toxicity of copper to citrus seedlings - Proc.Fla.Hort.Soc. 66 , 73 p.

[55] REUTHER W., SMITH P.F., I954 - Toxic effects of accumulated copper in Florida soils - Soil.Sci.Fla.Proc. I4 ; I7 p.

[56] RICHTER D.A., WESTERFIELD W.W., I953 - J. Biol.Chem. 203, 9I5 ; I954 - J.Biol.Chem. 209, I79.

[57] SAINT -RAT(de) L., I948 -C.R.Acad.Sci.,227 ,I50.

[58] SAVITZKY-GOLAY.,I966 - Anal.Chem.,35 , 635.

[59] SMITH H.? I963 - Anal.Chem., 35; 635.

[60] TAYLOR D., I963 - Neutron Irradiation and Activation Analysis - LONDON.

/ 61 7 YULE, 1967 - Nuclear Instruments and Methods, 54, 61-65.

/ 62 7 WERTERMARLE, T. and SJOSTRAND, B., 1960 - Int. J. Appl. Rad. Isot., 9, n° 1, 63.

/ 63 7 WESTOOG, 1969 - in Chemical Fallout Herausg., MILLER, M.W. und BERG, G.G., Springfield, 5, 75.